ผลของโพรลีนและพาโคลบิวทราโซลต่อการเติบโตและลักษณะทางสรีรวิทยาภายใต้สภาวะความเครียดเกลือของกล้วยไม้สกุลหวายโซเนียโจแดงในหลอดทดลอง

โดย

นางสาวอรพินท์ จูนีนารถ

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

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ผลของโพรลีนและพาโคลบิวทราโซลต่อการเติบโตและลักษณะทางสรีรวิทยาภายใต้
สภาวะความเครียดเกลือของกล้วยไม้สกุลหวายโซเนียโจแดงในหลอดทดลอง

โดย
นางสาวอรพินท์ จูนีนารถ

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

EFFECTS OF PROLINE AND PACLOBUTRAZOL ON GROWTH AND PHYSIOLOGY OF *IN VITRO DENDROBIUM* 'SONAI JO DAENG' UNDER SALT STRESS CONDITION

By

MISS Orapin JUNEENAT

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	ผลของโพรลีนและพาโคลบิวทราโซลต่อการเติบโตและลักษณะทางสรีรวิทยาภายใต้สภาวะความเครียดเกลือของกล้วยไม้สกุลหวายโซเนียโจแดงในหลอดทดลอง
โดย	อรพินท์ จูนีนารถ
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)

มหาวิทยาลัยศิลปากร

60303207 : ชีววิทยา แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต

คำสำคัญ : กล้วยไม้สกุลหวาย, สภาวะความเครียดเกลือ, โพรลีน, พาโคลบิวทราโซล (PBZ), โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)

นางสาว อรพินท์ จูนีนารถ: ผลของโพรลีนและพาโคลบิวทราโซลต่อการเติบโตและลักษณะทางสรีรวิทยาภายใต้สภาวะความเครียดเกลือของกล้วยไม้สกุลหวายโซเนียโจแดงในหลอดทดลอง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กุลนาถ อบสุวรรณ

ความเค็มจัดเป็นสภาวะความเครียดที่เกิดจากสิ่งแวดล้อมภายนอก ส่งผลต่อผลผลิตของพืชรวมถึงกล้วยไม้ ทำให้การเจริญเติบโตผิดปกติ และมีปริมาณหรือคุณภาพของผลผลิตลดต่ำลง กล้วยไม้สกุลหวายถือเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย เป็นไม้ตัดดอกและไม้กระถางที่ส่งออกและทำรายได้เป็นอันดับต้นๆให้กับประเทศ อย่างไรก็ตามความเค็มจัดเป็นสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เป็นอีกหนึ่งปัจจัยในการไปจำกัดการเจริญของกล้วยไม้ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาระดับความเค็มของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0 100 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ ที่มีผลต่อกล้วยไม้สกุลหวาย และศึกษาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของโพรลีนหรือพาโคลบิวทราโซล (PBZ) เพื่อช่วยลดผลกระทบเชิงลบที่เกิดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ให้กับต้นกล้วยไม้สกุลหวาย โดยเปรียบเทียบวิธีการให้สารแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ 1. การให้ต้นกล้วยไม้ได้รับสารโพรลีนที่ระดับความเข้มข้น 0 1.25 2.5 5.0 7.5 และ 10.0 มิลลิโมลาร์ หรือ PBZ ที่ระดับความเข้มข้น 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับสภาวะความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ และ 2. การให้ต้นกล้วยไม้ได้รับสารโพรลีนหรือ PBZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ โดยจากการศึกษาพบว่าระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ ขึ้นไปมีผลไปลดการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ ส่วนผลการให้ต้นกล้วยไม้ได้รับสารทั้งสองชนิดเพื่อช่วยลดผลกระทบจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ พบว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารโพรลีน 5.0 มิลลิโมลาร์ หรือ PBZ 6.8 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ สามารถช่วยลดผลกระทบได้มากที่สุด การวิเคราะห์ผลทางสรีระวิทยาของต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารโพรลีน 5.0 มิลลิโมลาร์ หรือ PBZ 6.8 ไมโครโมลาร์ ชักนำให้มีปริมาณโพรลีน น้ำตาล กิจกรรมของเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) และ catalase (CAT) ให้เพิ่มขึ้น และยังพบปริมาณ malondialdehyde (MDA) และเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ (EL) ในปริมาณที่น้อยกว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์เพียงอย่างเดียว แสดงให้เห็นถึงการใช้สารโพรลีนหรือ PBZ ในปริมาณที่เหมาะสมสามารถช่วยลดผลกระทบเชิงลบของเกลือโซเดียมคลอไรด์ได้

60303207 : Major (BIOLOGY)
Keyword : Dendrobium, Salt stress condition, proline, paclobutrazol (PBZ), Sodium chloride (NaCl)

MISS ORAPIN JUNEENAT : EFFECTS OF PROLINE AND PACLOBUTRAZOL ON GROWTH AND PHYSIOLOGY OF *IN VITRO DENDROBIUM* 'SONAI JO DAENG' UNDER SALT STRESS CONDITION THESIS ADVISOR : ASSISTANT PROFESSOR DR. KULLANART OBSUWAN

Salinity is one of the major abiotic stresses that affects the productivity of plants, including orchids and caused an abnormal growth as well as reduced the quantity or quality of productivity. *Dendrobium* is an important economic plant in Thailand. It uses as cut flowers and potted plants which are exported and made a top income for the country. However, salt stress is one of the factors that limits *Dendrobium* growth and development. Therefore, in this research was aimed to study the effect of sodium chloride (NaCl) at the concentrations of 0, 100, 200 and 300 mM and the appropriate concentration of proline or paclobutrazol (PBZ) in order to reduce the negative effects of NaCl on *in vitro* growth of *Dendrobium*. This experiment was compared the 2 methods of application 1. *Dendrobium* is treated with proline at the concentration of 0, 1.25, 2.5, 5.0, 7.5 and 10.0 mM or PBZ at the concentration of 0, 1.7, 3.4, 6.8, 13.6 and 27.2 μM under salt stress condition and 2. *Dendrobium* cultured on proline or PBZ at various concentrations as mention previously for 7 days before transferred to salt stress condition. The result showed that the concentrations of NaCl up to 200 mM decreased the growth of *Dendrobium.* While *Dendrobium* cultured on VW supplemented with proline at the concentration of 5.0 mM or PBZ at the concentration of 6.8 μM for 7 days prior to transfer to salt stress condition gave the best result to alleviate negative effects from NaCl. Proline at the concentration of 5.0 mM and PBZ at the concentration of 6.8 μM also increase proline and total soluble sugar accumulation and activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) and lower malondialdehyde (MDA) content and percentage of electrolyte leakage (EL). Consequently, proline and PBZ at the appropriate concentration are able to reduce the negative effect of NaCl on *Dendrobium.*

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณา และความช่วยเหลือจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลนาถ อบสุวรรณ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำ ตลอดจนกำลังใจที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อผู้วิจัย รวมทั้งผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศรัณยพร มากทรัพย์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กนกวรรณ เสรีภาพ ที่ได้สละเวลาเป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ ใช้คำปรึกษาและคำแนะนำต่างๆ แก่ผู้วิจัย เพื่อให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง ขอขอบคุณอาจารย์ทุกๆ ท่าน บิดา มารดา บุคลากรในห้องปฏิบัติการ ตลอดจนเพื่อนๆ พี่ๆทุกคน ที่คอยให้คำแนะนำ และให้กำลังใจเสมอมา จนทำให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จได้

อรพินท์ จูนีนารถ

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย .... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ .... จ

กิตติกรรมประกาศ .... ฉ

สารบัญ .... ช

สารบัญตาราง .... ญ

สารบัญรูปภาพ .... ฎ

บทที่ 1 1

บทนำ 1

ที่มาและความสำคัญ 1

วัตถุประสงค์ 2

ประโยชนที่คาดวาจะไดรับจากการวิจัย 2

สมมติฐาน 2

ขอบเขตของการศึกษา 3

บทที่ 2 4

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

กล้วยไม้สกุลหวาย 4

ปัจจัยสภาพแวดล้อมต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย 5

สาเหตุที่ทำให้คุณภาพของกล้วยไม้ลดลง 7

มาตรฐานในการวัดค่าความเค็ม 9

L-Proline 12

กระบวนการสังเคราะห์โพรลีนในพืช 12

Paclobutrazol (PBZ).. 14

บทที่ 3.. 18

วิธีการดำเนินงานวิจัย... 18

1. พืชที่ใช้ในการทดลอง 18

2. วัสดุอุปกรณ์ 18

3. สารเคมี 20

การทดลองที่ 1 ผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ในความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง.. 23

การทดลองที่ 2 ผลของโพรลีน และพาโคลบิวทราโซลในความเข้มข้นต่างๆที่ทำให้กล้วยไม้สกุลหวายสามารถเจริญเติบโตได้ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือในหลอดทดลอง 23

การทดลองที่ 3 ผลของการเพาะเลี้ยงต้นกล้วยไม้บนอาหารที่มีโพรลีน และพาโคลบิวทราโซลในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นระยะเวลา 7 วันก่อนได้รับความเครียดจากเกลือในหลอดทดลอง 25

การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของการให้โพรลีน และพาโคลบิวทราโซลก่อนได้รับหรือเมื่อได้รับความเครียดเกลือ (NaCl) ต่อการเติบโตและการวิเคราะห์ลักษณะทางสรีรวิทยาของกล้วยไม้สกุลหวาย ‘Sonia Jo Daeng’ 26

บทที่ 4.. 28

ผลการทดลอง 28

4.1 ผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง.. 28

4.2 ผลของโพรลีนต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายที่ได้รับสภาวะความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์เป็นเวลา 10 สัปดาห์.. 33

4.3 ผลของพาโคลบิวทราโซล (PBZ) ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายที่ได้รับสภาวะความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์........................... 40

4.4 ผลของโพรลีนต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายที่ได้รับสภาวะความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์.. 46

4.5 ผลของพาโคลบิวทราโซล (PBZ) ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายที่ได้รับสภาวะความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์........................... 53

4.6 ผลของการให้โพรลีน และพาโคลบิวทราโซลก่อนได้รับหรือเมื่อได้รับความเครียดเกลือ โซเดียมคลอไรด์ต่อการวิเคราะห์ลักษณะทางสรีรวิทยาของกล้วยไม้สกุลหวายโซเนียโจแดง 59
การวิเคราะห์ปริมาณโพรลีน 59
การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล 61
การวิเคราะห์ปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ 63
การวิเคราะห์ปริมาณ Malondialdehyde (MDA) 65
การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) 66
การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ Catalase (CAT) 68
บทที่ 5 70
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง 70
5.1 ผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ในความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง 70
5.2 ผลของโพรลีนต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายที่ได้รับสภาวะความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ 71
5.3 ผลของพาโคลบิวทราโซล (PBZ) ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายที่ได้รับสภาวะความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์เป็นเวลา 10 สัปดาห์ 72
5.4 ผลของการให้โพรลีน และพาโคลบิวทราโซลก่อนได้รับหรือเมื่อได้รับความเครียดเกลือ โซเดียมคลอไรด์ต่อการวิเคราะห์ลักษณะทางสรีรวิทยาของกล้วยไม้สกุลหวายโซเนียโจแดง 73
สรุปผลการทดลอง 75
รายการอ้างอิง 76
ภาคผนวก 83
ประวัติผู้เขียน 109

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 การจำแนกระดับความเค็มที่มีผลกระทบต่อพืช 6

ตารางที่ 2 จำนวนต้นกล้วยไม้ที่ลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์และอัตราการตายของต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ ภายใต้สภาวะเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์........ 31

ตารางที่ 3 อัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์ของต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ ต่อสัปดาห์เมื่อได้รับโพรลีน (proline) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 200 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์........ 36

ตารางที่ 4 อัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์ของต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับพาโคบิวทราโซล (PBZ) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 200 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม........ 42

ตารางที่ 5 อัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์และอัตราการตายของต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับโพรลีน (proline) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 300 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์........ 49

ตารางที่ 6 อัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์และอัตราการตายของต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ Sonia ‘Jo Daeng’ เมื่อได้รับพาโคบิวทราโซล (paclobutrazol) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 300 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์........ 55

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 1 การสังเคราะห์โพรลีน (Szabados & Savoure, 2010) 13

รูปที่ 2 การทำงานของ PBZ ในเซลล์พืช (Soumya, 2014) 15

รูปที่ 3 อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับสภาวะเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ 28

รูปที่4 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (A = 0 mM; B = 100 mM; C = 200 mM; D= 300 mM) โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ 29

รูปที่ 5 การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย เมื่อได้รับสภาวะความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เป็นเวลา 10 สัปดาห์; a, b และ c หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ α= 0.05 30

รูปที่ 6 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ ภายใต้สภาวะเครียดเนื่องจากความเค็ม โดยได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0, 100, 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ 31

รูปที่ 7 ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างอัตราการตายของต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ แบบ Probit กับลอการึทึมของระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 32

รูปที่ 8 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับโพรลีน (proline) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ 33

รูปที่ 9 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับโพรลีน (proline) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ 34

รูปที่ 10 อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับโพรลีน (proline) ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ 35

รูปที่ 11 การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายเมื่อได้รับโพรลีน (proline) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะความเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เป็นเวลา 10 สัปดาห์; a, b และ c หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ α= 0.05 38

รูปที่ 12 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ 'Sonia Jo Daeng' เมื่อได้รับโพรลีน (proline) (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) ร่วมกับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ 39

รูปที่ 13 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ 'Sonia Jo Daeng' เมื่อได้รับโพรลีน (proline) (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ 39

รูปที่ 14 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ 'Sonia Jo Daeng' เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซล (PBZ) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ 40

รูปที่ 15 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ 'Sonia Jo Daeng' เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซล (PBZ) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ 41

รูปที่ 16 อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ 'Sonia Jo Daeng' เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซล (PBZ) ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ 42

รูปที่ 17 การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายเมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซล (PBZ) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะความเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เป็นเวลา 10 สัปดาห์; a, b และ c หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ α= 0.05 44

รูปที่ 18 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ 'Sonia Jo Daeng' เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซล (PBZ) (A = 0 µM; B = 1.7 µM; C = 3.4 µM; D = 6.8 µM; E = 13.6 µM; F = 27.2 µM) ร่วมกับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ 45

รูปที่ 19 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ 'Sonia Jo Daeng' เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซล (PBZ) (A = 0 µM; B = 1.7 µM; C = 3.4 µM; D = 6.8 µM; E = 13.6 µM; F = 27.2 µM) เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ 45

รูปที่ 20 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับโพรลีน (Proline) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 47

รูปที่ 21 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับโพรลีน (proline) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 48

รูปที่ 22 อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับโพรลีน (proline) ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์..... 49

รูปที่ 23 การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายเมื่อได้รับโพรลีน (proline) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เป็นเวลา 10 สัปดาห์; a, b, c, d และ e หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ α= 0.05 51

รูปที่ 24 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับโพรลีน (proline) (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) ร่วมกับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ 52

รูปที่ 25 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับโพรลีน (proline) (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์..... 52

รูปที่ 26 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซล (PBZ) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 53

รูปที่ 27 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซล (PBZ) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 54

รูปที่ 28 อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับพาโคลบิว ทราโซล (PBZ) ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์..... 55

รูปที่ 29 การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายเมื่อได้รับ PBZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เป็นเวลา 10 สัปดาห์; a, b, c, d, e และ f หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ α= 0.05 57

รูปที่ 30 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซล (PBZ) (A = 0 μM; B = 1.7 μM; C = 3.4 μM; D = 6.8 μM; E = 13.6 μM; F = 27.2 μM) ร่วมกับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ 58

รูปที่ 31 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซล (PBZ) (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ 58

รูปที่ 32 ปริมาณโพรลีนเมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือและสารโพรลีน 5 มิลลิโมลาร์ หรือ PBZ 6.8 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e, f, g, h และ i หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ α= 0.05 60

รูปที่ 33 ปริมาณน้ำตาลเมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือและสารโพรลีน 5 มิลลิโมลาร์ หรือ PBZ 6.8 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e, f, g, h และ i หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ α= 0.05 62

รูปที่ 34 ปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์เมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือและสารโพรลีน 5 มิลลิโมลาร์ หรือ PBZ 6.8 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e และ f หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ α= 0.05 64

รูปที่ 35 ปริมาณ MDA เมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือและสารโพรลีน 5 มิลลิโมลาร์ หรือ PBZ 6.8 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e, f และ g หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ α= 0.05 65

รูปที่ 36 กิจกรรมของเอนไซม์ SOD เมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือและสารโพรลีน 5 มิลลิโมลาร์ หรือ PBZ 6.8 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e, f, g, h และ i หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ α= 0.05 67

รูปที่ 37 กิจกรรมของเอนไซม์ CAT เมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือและสารโพรลีน 5 มิลลิโมลาร์ หรือ PBZ 6.8 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e, f, g, h, I, j และ k หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ α= 0.05 69

บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญ

กล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*) เป็นหนึ่งในสกุลกล้วยไม้ที่ใหญ่เป็นอันดับสอง รองจากสกุล *Bulbophyllum* มีประมาณ 1500 สายพันธุ์ พบในเขตร้อนถึงกึ่งร้อน มีการกระจายพันธุ์ในบริเวณทวีปเอเชีย ออสเตรเลีย และหมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก (De & Deb, 2016) เป็นกล้วยไม้อิงอาศัย (Epiphytic) มีระบบรากกึ่งอากาศ และมีการเจริญเติบโตแบบแตกกอ (Sympodial) เป็นกล้วยไม้ที่มีลำลูกกล้วย หรือ psudobulbs ลักษณะยาว แต่บางสายพันธุ์จะให้ลำลูกกล้วยในลักษณะสั้น ๆ ใบมีลักษณะแบน แข็ง และหนา เรียงตัวแบบสลับ ขอบใบเรียบ มีขนาด 2.5-40 เซนติเมตร (De et al., 2015) กล้วยไม้สกุลหวายถูกใช้เป็นไม้ตัดดอกและไม้กระถางที่นิยมไปทั่วโลก เนื่องจากมีความหลากหลายของขนาด และรูปร่าง รวมถึงสีของดอก สามารถผลิตดอกได้ตลอดทั้งปี (Anderson, 2006; De et al., 2015) สภาพอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการปลูกเลี้ยงจะอยู่ในช่วง 24-30 องศาเซลเซียส และต้องการช่วงความเข้มแสงที่ค่อนข้างสูงในการเจริญเติบโต และเพื่อการออกดอกคล้ายพืชดอกโดยทั่วไป การออกดอกของกล้วยไม้จะให้ดอกเมื่อเจริญจนสุดลำ มีประมาณ 1-5 ช่อ โดยจะแตกจากตาที่ปลายลำ และตาข้อที่ถัดลงมา ซึ่งการออกดอกจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ และความสมบูรณ์ของต้น (De & Deb, 2016) โดยทั่วไปกล้วยไม้จะออกดอกมากประมาณเดือนกรกฎาคม–ตุลาคม หรือในช่วงฤดูฝน หลังจากนั้นปริมาณกล้วยไม้จะเริ่มน้อยลงไปจนถึงเดือนมิถุนายน (สุเทพ รักจิตร, 2544)

กล้วยไม้ถือเป็นไม้ตัดดอกที่ทำรายได้ให้กับประเทศได้มากที่สุดถึงประมาณ 2000 ล้านบาท 60% เป็นการผลิตเผื่อใช้ในประเทศ อย่างไรก็ตาม ปัญหาภัยแล้งขาดแคลนน้ำ และน้ำเค็มรุกพื้นที่การผลิต (สำนักส่งเสริมการค้าสินค้าเกษตรและอุตสาหกรรมกรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ, 2560) ทำให้เนื้อที่เก็บเกี่ยว และผลผลิตกล้วยไม้ลดลงจาก 21,602 ไร่ ซึ่งคิดเป็นผลผลิตของกล้วยไม้ได้ 51,834 ตัน ในปี 2551 ลดลงเหลือเพียง 18,169 ไร่ และคิดเป็นผลผลิตของกล้วยไม้ได้ 36,702 ตัน ในปี 2555 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2555) สาเหตุมาจากการเกิดอุทกภัยในช่วงปลายปี 2554 ทำให้พื้นที่ปลูก และผลผลิตกล้วยไม้บางส่วนเกิดความเสียหาย ส่งผลให้แนวโน้มในภาพรวมลดลง ส่วนผลผลิตต่อไร่เพิ่มขึ้นเล็กน้อยในปี 2555 คิดเป็นอัตราร้อยละ 0.16 ต่อปี (กรมวิชาการเกษตร, 2555) ปัญหาน้ำเค็มรุกเข้าพื้นที่การเพาะปลูกกล้วยไม้ยังคงมีมาต่อเนื่องทุกปี เนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศโลก ทำให้มีความแปรปรวนของปริมาณน้ำฝน และฤดูกาลส่งผลต่อเนื่องทำให้ปริมาณน้ำจืดที่ใช้ในการเพาะปลูกลดลง เป็นผลให้เกิดปัญหาน้ำเค็มรุกพื้นที่เพาะปลูกพืช รวมทั้งกล้วยไม้ ทำให้กล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือ ซึ่งสภาวะความเครียดเกลือมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชโดยจะทำให้พืชมีการเจริญเติบโตลดลง เช่น จำนวนใบ และรากลดลง รวมถึงสภาวะความเครียดเกลือยังไปจำกัดการดูดซึมแร่ธาตุในพืช ทำให้เกิดความไม่สมดุลของแร่ธาตุ (Al-Shorafa et al., 2014) ส่งผลทำให้ผลผลิตลดลงในที่สุด ดังนั้นเพื่อให้ปริมาณการจำหน่าย และส่งออกเท่าเดิม หรือสูงขึ้น ทำได้โดยการเพิ่มพื้นที่การผลิต ขยายพื้นที่การปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ให้

สามารถปลูกได้ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ในพื้นที่ที่มีน้ำทะเลหนุนสูง ในสภาวะที่มีอัตราส่วนของน้ำเค็มมากกว่าน้ำจืด ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาผลของสารเคมีบางชนิดที่ทำให้กล้วยไม้สกุลหวายสามารถทนต่อสภาวะความเครียดที่เกิดจากเกลือ หรือความเค็มในหลอดทดลอง โดยใช้สารที่มีคุณสมบัติ ช่วยในการปรับตัวของพืชทำให้พืชสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการประยุกต์ใช้ในแปลงปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ต่อไป ซึ่งในงานวิจัยนี้จะนำสารโพรลีนและพาโคลบิวทราโซล มาใช้ในการลดผลกระทบจากสภาวะความเครียดเกลือของกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง ซึ่งสารทั้งสองชนิดนี้ มีคุณสมบัติในการรักษาสมดุลของน้ำ และแรงดันออสโมติกระหว่างในเซลล์พืชกับสิ่งแวดล้อม สามารถป้องกันพืชจากสภาวะเครียดต่างๆได้

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ทำให้กล้วยไม้สกุลหวาย 'Sonia Jo Daeng' ตาย 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ในหลอดทดลอง
2. เพื่อศึกษาผลของความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้โพรลีน และพาโคลบิวทราโซลในการลดความเครียดที่เกิดจากความเค็ม ในกล้วยไม้สกุลหวาย 'Sonia Jo Daeng' ในหลอดทดลอง
3. ศึกษาผลความเข้มข้นที่เหมาะสมของโพรลีน และพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้นที่แตกต่างกันต่อลักษณะทางสรีรวิทยาและการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวาย 'Sonia Jo Daeng' ในสภาวะความเครียดเกลือในหลอดทดลอง

ประโยชนที่คาดวาจะไดรับจากการวิจัย

1. ทราบความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ทำให้กล้วยไม้สกุลหวาย 'Sonia Jo Daeng' ตาย 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ในหลอดทดลอง
2. ทราบระดับความเข้มข้นของโพรลีน และพาโคลบิวทราโซลที่เหมาะสม ทำให้กล้วยไม้สกุลหวาย 'Sonia Jo Daeng' สามารถเจริญเติบโตได้ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือได้ในหลอดทดลอง
3. ทราบระยะเวลาที่เหมาะสมในการใช้สารโพรลีนและพาโคลบิวทราโซลที่ทำให้กล้วยไม้สกุลหวาย 'Sonia Jo Daeng' สามารถเจริญเติบโตได้ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือในหลอดทดลอง
4. สามารถนำความรู้ที่ได้มาประยุกต์ใช้ในแปลงปลูกกล้วยไม้ของเกษตรกรในอนาคต

สมมติฐาน

การใช้โพรลีนและพาโคลบิวทราโซล ที่ความเข้มข้น และระยะเวลาที่เหมาะสมช่วยลดผลกระทบจากสภาวะความเครียดเกลือโดยส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและการสะสมสาร compatible solute เพื่อช่วยให้พืชปรับตัวได้ในสภาวะความเครียดเกลือ

ขอบเขตของการศึกษา

1. ศึกษาการเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลองภายใต้สภาวะความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 0 100 200 และ 300 มิลลิโมลาร์
2. ศึกษาผลของโพรลีนที่ระดับความเข้มข้น 0 1.25 2.5 5.0 7.5 และ 10.0 มิลลิโมลาร์ และพาโคลบิวทราโซลที่ระดับความเข้มข้น 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ต่อการเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายเมื่อได้รับสภาวะความเครียดเกลือในหลอดทดลอง
3. ศึกษาผลของโพรลีน และพาโคลบิวทราโซลที่ส่งผลให้ต้นกล้วยไม้สกุลหวายสามารถเติบโตได้ดีที่สุดภายใต้สภาวะความเครียดเกลือในหลอดทดลอง ต่อปริมาณโพรลีนที่สะสมในพืช
4. ศึกษาผลของโพรลีน และพาโคลบิวทราโซลที่ส่งผลให้ต้นกล้วยไม้สกุลหวายสามารถเติบโตได้ดีที่สุดภายใต้สภาวะความเครียดเกลือในหลอดทดลองต่อปริมาณ malondialdehyde (MDA)
5. ศึกษาผลของโพรลีน และพาโคลบิวทราโซลที่ส่งผลให้ต้นกล้วยไม้สกุลหวายสามารถเติบโตได้ดีที่สุดภายใต้สภาวะความเครียดเกลือในหลอดทดลองต่อปริมาณน้ำตาล (total soluble sugar)
6. ศึกษาผลของโพรลีน และพาโคลบิวทราโซลที่ส่งผลให้ต้นกล้วยไม้สกุลหวายสามารถเติบโตได้ดีที่สุดภายใต้สภาวะความเครียดเกลือในหลอดทดลองต่อกิจกรรมของเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) และเอนไซม์ catalase (CAT)
7. ศึกษาผลของโพรลีน และพาโคลบิวทราโซลที่ส่งผลให้ต้นกล้วยไม้สกุลหวายสามารถเติบโตได้ดีที่สุดภายใต้สภาวะความเครียดเกลือในหลอดทดลองต่อการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กล้วยไม้สกุลหวาย

วงศ์ : Orchidaceae

สกุล : *Dendrobium*

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Dendrobium*

กล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium*) อยู่ในวงศ์ Orchidaceae เป็นกล้วยไม้สกุลใหญ่ มีจำนวนชนิด (species) ที่หลากหลายพบมากกว่า 1,000 ชนิด ซึ่งนักพฤกษศาสตร์จำแนกกล้วยไม้สกุลหวายได้เป็น 41 หมู่ (section) ตัวอย่างเช่น ฟาแลนแนนเธ (*Phalaenanthe*) เซอราโทเบียม (*Ceratobium*) เป็นต้น กล้วยไม้สกุลหวาย มีลักษณะการเจริญเติบโตแบบแตกกอ หรือ sympodial เป็นกล้วยไม้อิงอาศัย (epiphytic) จึงมีระบบรากกึ่งอากาศ ใบมีลักษณะแบน แข็ง และหนา เรียงตัวแบบสลับ ขอบใบเรียบ มีขนาด 2.5-40 เซนติเมตร (Baker & Baker, 1996; พัชรียา บุญกอแก้ว, 2553) สภาพอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการปลูกเลี้ยงจะอยู่ในช่วง 24-30 องศาเซลเซียส และต้องการช่วงความเข้มแสงที่ค่อนข้างสูงในการเจริญเติบโต และการออกดอกเหมือนพืชดอกโดยทั่วไป การออกดอกของกล้วยไม้จะให้ดอกเมื่อเจริญจนสุดลำ มีประมาณ 1-5 ช่อ โดยจะแตกจากตาที่ปลายลำ และตาข้อที่ถัดลงมา ซึ่งการออกดอกจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ และความสมบูรณ์ของต้น กล้วยไม้สกุลหวายเป็นไม้กระถาง และไม้ตัดดอกที่ได้รับความนิยมไปทั่วโลก เนื่องจากมีความหลากหลายของขนาด และรูปร่าง รวมถึงสีของดอก สามารถผลิตดอกได้ตลอดทั้งปี (Anderson, 2006; De et al., 2015)

กล้วยไม้สกุลหวายจัดเป็นกล้วยไม้เขตร้อน เหมาะสมที่จะปลูกในประเทศไทย เนื่องจากมีสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสม ซึ่งแหล่งปลูกที่สำคัญคือ จังหวัด นครปฐม ราชบุรี สมุทรสาคร สุพรรณบุรี และจังหวัดใกล้เคียง (กรมวิชาการเกษตร, 2555) ทำให้ประเทศไทยเป็นผู้ผลิต และส่งออกดอกกล้วยไม้ เขตร้อนเป็นอันดับ 1 (Tropical orchid) ของโลก โดยกล้วยไม้สกุลหวายเป็นพันธุ์ที่ถูกส่งออกเป็นอันดับ 1 รองลงมาคือ มอคคารา และแวนด้า ตามลำดับ (สำนักส่งเสริมการค้าสินค้าเกษตรและอุตสาหกรรมกรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ, 2560) จึงถือได้ว่ากล้วยไม้เป็นหนึ่งในสินค้าที่เป็นสัญลักษณ์ของไทย จึงทำให้ประเทศไทยกลายเป็นศูนย์กลางของการขยายพันธุ์ และผลิตกล้วยไม้สกุลหวายเพื่อการส่งออก และจำหน่ายสู่ตลาดกล้วยไม้ในต่างประเทศ หรือตลาดกล้วยไม้โลก (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2557)

ปัจจัยสภาพแวดล้อมต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย

1. อุณหภูมิ

การเจริญเติบโตของกล้วยไม้แต่ละสายพันธุ์ต้องการอุณหภูมิในการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน กล้วยไม้สกุลหวายต้องการอุณหภูมิค่อนข้างสูง ประมาณ 24-30 องศาเซลเซียส ในการเจริญเติบโต (De & Deb, 2016) จึงทำให้พบการปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ชนิดนี้ในประเทศไทยเป็นจำนวนมาก เนื่องจากมีสภาพอากาศ และอุณหภูมิที่เหมาะสม แต่หากสภาพอากาศแปรปรวนก็มีผลทำให้กล้วยไม้ไม่สามารถเจริญเติบโต หรือให้ดอกที่สวยงามได้

2. แสง

แสงเป็นส่วนที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้มากที่สุด โดยเฉพาะ ความเข้มแสง กล้วยไม้ควรได้รับความเข้มแสง 10,000-15,000 แคนเดลา/วัน หรือ 15,000-40,000 ลักซ์ โดยส่วนใหญ่กล้วยไม้จะมีการเจริญเติบโตที่ต่ำ หรือไม่สามารถที่จะเจริญเติบโตได้ หากได้รับแสงโดยตรงจากดวงอาทิตย์ การปลูกกล้วยไม้จึงจำเป็นต้องมีการพรางแสงให้แก่กล้วยไม้ โดยวัสดุส่วนใหญ่ที่ใช้ในการพรางแสงคือ ซาแลน หรือตาข่ายพรางแสง ซึ่งกล้วยไม้สกุลหวายต้องการการพรางแสงร้อยละ 40-50 (สิทธิ์ ดนัยพิริยะ, 2513)

3. การถ่ายเทอากาศ

ปัจจัยนี้ เน้นถึงการออกแบบโรงเรือนกล้วยไม้ รวมไปถึงการออกแบบโต๊ะวาง หรือราวแขวนกล้วยไม้ ซึ่งมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของกล้วยไม้ ซึ่งโรงเรือนของกล้วยไม้ในภาคกลางควรมีความสูงไม่ต่ำกว่า 3 เมตร ในโรงเรือนที่มีขนาดใหญ่ ควรขึงตาข่ายพรางแสงให้มีระยะห่างกันประมาณ 15 เซนติเมตร หรือทุกระยะ 20 - 25 เซนติเมตร ควรขึงตาข่ายให้เหลื่อมกัน 5 เซนติเมตร โต๊ะที่ใช้วางกล้วยไม้ควรมีความสูงระหว่าง 50 -70 เซนติเมตร มีความกว้าง 1 เมตร และความยาว 20 - 30 เซนติเมตร เพื่อการถ่ายเทของอากาศที่ดีขึ้น (ทวีพงศ์ สุวรรณโณ, 2551)

4. ธาตุอาหาร

ปริมาณธาตุอาหารที่กล้วยไม้แต่ละชนิดต้องการ อาจขึ้นอยู่กับชนิดของกล้วยไม้ ระยะการเจริญเติบโต ชนิดของวัสดุปลูก และสภาพการปลูก ซึ่งโดยปกติเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพธรรมชาติสามารถเจริญเติบโตได้เมื่ออยู่ในสภาวะที่เรียกว่า symbiosis หรือการอยู่ร่วมกันแบบเกื้อกูลกัน กับเชื้อราในกลุ่ม Mycorrhiza โดยเชื้อรา จะเป็นแหล่งในการสร้างสารพวกคาร์โบไฮเดรต ให้แก่เมล็ดกล้วยไม้ (สิทธิ์ ดนัยพิริยะ, 2513)

5. น้ำ และความชื้น

การให้น้ำแก่กล้วยไม้ ต้องคำนึงถึงวัสดุปลูกที่ใช้ โดยเฉพาะกล้วยไม้ที่ใช้วัสดุปลูกที่มีความสามารถในการอุ้มน้ำได้สูง ต้องรดน้ำอย่างระมัดระวังเป็นพิเศษ เพราะการให้น้ำมากเกินไปกล้วยไม้อาจเกิดการฉ่ำน้ำ เป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการเน่า และทำให้เชื้อโรคเข้าทำลายได้ง่าย โดยน้ำที่ใช้ดูแลต้นกล้วยไม้ต้องเป็นน้ำที่มีคุณภาพดี ควรมีค่าการนำไฟฟ้าไม่เกิน 2 dS/m (United States Salinity Laboratory Staff, 1954) ซึ่งอยู่ในระดับที่ไม่ส่งผลกระทบต่อพืช (ตารางที่ 1) ส่วนการรดน้ำควรอยู่ระหว่างช่วงเช้าเวลาประมาณ 8:00 - 9:00 การให้ความชื้นในโรงเรือนที่ปลูกเลี้ยงควรให้ในระดับความชื้นที่เหมาะสม อาจพิจารณาจากสภาพอากาศ ฤดูกาล โดยในกล้วยไม้สกุลหวาย หากได้รับความชื้นไม่เพียงพอจะทำให้ต้นกล้วยไม้เกิดการทิ้งใบ (ทวีพงศ์ สุวรรณโณ, 2551)

ตารางที่ 1 การจำแนกระดับความเค็มที่มีผลกระทบต่อพืช
(U.S. Soil Salinity Laboratory Staff, 1954)

ระดับความเค็ม	ค่าการนำไฟฟ้า เดซิซีเมนต่อเมตร (dS/m)	ผลต่อการเจริญเติบโตของพืช
ไม่เค็ม	น้อยกว่า 2	ไม่มีผลกระทบต่อพืช
เค็มน้อย	2 – 4	มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาของพืชที่ไวต่อความเค็ม
เค็มปานกลาง	4 – 8	มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาของพืชหลายชนิด
เค็มมาก	8-16	มีเพียงพืชทนเค็มเท่านั้นที่สามารถเจริญเติบโตและให้ผลผลิตได้
เค็มจัด	มากกว่า 16	มีผลต่อพืชทั่วไป ไม่เหมาะสำหรับการเกษตร

การเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายขึ้นอยู่กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมหลายประการประกอบกัน หากมีปัจจัยใดบกพร่องก็อาจทำให้การเจริญเติบโตเป็นไปอย่างผิดปกติ ไม่สมบูรณ์ เกิดปัญหาระหว่างการปลูกเลี้ยง ปัจจุบันผลผลิตกล้วยไม้ในประเทศไทยที่ผลิตเพื่อการส่งออกมีประมาณ 40% ส่วนอีก 60% เป็นการผลิตเผื่อใช้ในประเทศ (สำนักส่งเสริมการค้าสินค้าเกษตรและอุตสาหกรรมกรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ, 2560)

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สาเหตุที่ทำให้คุณภาพของกล้วยไม้ลดลง

โรค และแมลงศัตรู

โรค และแมลงเป็นปัจจัยภายนอกที่ก่อให้เกิดปัญหาระหว่างการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ โดยโรคในกล้วยไม้พบได้หลายชนิด ความเสียหายจะแตกต่างกันตามความรุนแรงของเชื้อที่ก่อโรค หากเชื้อที่ก่อโรคมีความรุนแรงมากก็อาจทำให้กล้วยไม้ตายในระยะเวลาอันรวดเร็วหลังจากพืชได้รับเชื้อ (นิยมรัฐ ไตรศรี, 2542) ซึ่งคุณสมบัติของแมลง และเชื้อโรค โดยทั่วไปจะต้องมีความสามารถในการขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว ขนาดตัวมีขนาดเล็ก ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า โดยโรคที่ก่อให้เกิดความเสียหาย และพบบ่อยในกล้วยไม้ ได้แก่ โรคเหี่ยว โรคเน่าดำ โรคใบปื้นเหลือง โรคใบจุด และโรคแอนแทรกโนส

1) โรคเหี่ยว หรือเน่าแห้งที่เกิดจากเชื้อราเมล็ดผักกาด ป้องกันการเกิดโรคโดยตรวจดูแปลงปลูกสม่ำเสมอ หากพบโรคให้เผาทำลาย
2) โรคเน่าดำ หรือยอดเน่า (black rot or phytophtora rot) การป้องกันกำจัดทำได้โดยปลูกกล้วยไม้ให้มีระยะห่างพอดีไม่แน่นจนเกินไป และถ้าหากพบโรคระบาดขึ้นให้นำเผาทำลาย แต่หากพบในกล้วยไม้ระยะลูกกล้วยไม้ให้นำแยกออก
3) โรคใบปื้นเหลือง (yellow patch or Pseudocercospora leaf spot) ป้องกันกำจัดทำได้โดยการรวบรวมต้นที่เป็นโรคและเผาทำลายทิ้ง
4) โรคใบจุด หรือใบขี้กลาก ป้องกันโรคโดยการเผาทำลาย
5) โรคแอนแทรกโนส (anthranose) ป้องกันโรคโดยการเผาทำลาย

ส่วนแมลง ศัตรูกล้วยไม้ที่สำคัญ ได้แก่ เพลี้ยไฟ ไรแดง และหอยทาก เป็นต้น

นอกจากปัญหาที่เกิดจากโรค และแมลงแล้ว ยังมีปัญหาที่เกิดจากสภาพสิ่งแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงไม่เหมาะสม ซึ่งเป็นปัจจัยที่มีผลไปลดการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ ได้แก่

อุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม

การเจริญในสภาวะอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมจะมีผลทำให้ผลผลิตกล้วยไม้ไม่สมบูรณ์ โดยกล้วยไม้สกุลหวายเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 24 - 30 องศาเซลเซียส ในขณะที่อุณหภูมิที่สูงเกินไปจะมีผลทำให้กล้วยไม้เจริญเติบโตต่ำกว่าปกติ ต้นเหี่ยวเฉา ไม่แข็งแรง ง่ายต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรค ลักษณะที่ได้ไม่เป็นที่ต้องการของตลาด ส่วนอุณหภูมิที่ต่ำเกินไปมีผลกระทบต่อกล้วยไม้ทำให้การชักนำให้เกิดยอด และตาดอกต่ำลง จึงเป็นไปได้ที่จะทำให้กล้วยไม้ไม่สามารถออกดอกได้ หรือได้ผลผลิตของดอกที่ไม่มีคุณภาพ (Sinoda et al., 1988)

ความเข้มแสงที่ไม่เหมาะสม

การได้รับความเข้มของแสงสูง หรือต่ำเกินไปจะมีผลกระทบต่อการเจริญ และความแข็งแรงของต้นกล้วยไม้ กล่าวคือ ความเข้มแสงที่เหมาะสมในการปลูกเลี้ยงกล้วยไม้สกุลหวายอยู่ที่ 15000-40000 ลักซ์/วัน ถ้าความเข้มของแสงต่ำจะทำให้จำนวนดอกที่ผลิตได้ลดลง และมีคุณภาพดอกที่ไม่สมบูรณ์ เนื่องจากการเจริญเติบโตของตาดอกลดลง และถ้าหากได้รับความเข้มแสงที่มากเกินไป จะมีผลทำให้ใบไหม้ การสังเคราะห์แสงต่ำ และส่งผลถึงการเจริญเติบโตที่ไม่สมบูรณ์เช่นกัน (สิทธิ์ ดนัยพิริยะ, 2513)

คุณภาพน้ำที่ไม่เหมาะสม

น้ำเค็ม

เมื่อกล้วยไม้ได้รับความเค็มจะทำให้การเจริญเติบโตของกล้วยไม้ผิดปกติรวมถึงส่งผลให้ผลผลิตและคุณภาพของกล้วยไม้ลดลง (สุมาลี ชูกำแพง, 2555) โดยความเค็มไปก่อให้เกิดความเสียหายในพืชอันเนื่องมาจาก

1. ความเครียดออสโมติก (osmotic stress)

เมื่อพืชเกิดสภาวะเครียดเกลือจะส่งผลต่อการเจริญเติบโต ผลผลิต และเกิดการเข้าทำลายของโรคพืชได้ง่ายขึ้น เกลือที่มากเกินไปจะทำให้พืชได้รับ K^+ ลดลง เนื่องจาก Na^+ ที่พืชได้รับจากเกลือจะแข่งขันกับ K^+ ในการเข้าสู่รากพืช ซึ่ง K^+ มีผลต่อแรงดันเต่งในเซลล์พืช และส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์หลายชนิดในเซลล์ให้ดำเนินไปอย่างปกติ (Zhu, 2007) เมื่อเกิดความไม่สมดุลของไอออน จึงส่งผลให้พืชมีอัตราการเจริญเติบโตลดลง ดังนั้นเมื่อพืชได้รับความเครียดเกลือ พืชจึงต้องพยายามปรับตัวให้ระดับของ K^+ เพิ่มขึ้น และควบคุมปริมาณ Na^+ ให้ต่ำลงในไซโทพลาส (Zhu, 2003) นอกจากนี้ความเค็มยังส่งผลให้ค่าแรงดันออสโมติกเพิ่มขึ้น เนื่องจากการที่น้ำมีความเข้มข้นของสารละลายสูง ทำให้ค่าศักย์ของน้ำลดลง ความสามารถในการดูดน้ำ แรงดันเต่งภายในเซลล์พืชจึงลดลง ส่งผลให้การเจริญเติบโตของพืช รวมถึงผลผลิตของพืชก็ลดลงด้วย

2. เกิดความเป็นพิษเนื่องจากธาตุบางชนิด (ion toxicity)

เมื่อใดก็ตามที่ความเข้มข้นของสารละลายในดินสูง พืชจะดูด และสะสมไอออนจากสารละลายเหล่านั้น จนในเวลาผ่านไป การสะสมที่มากขึ้นจนถึงระดับเป็นพิษต่อพืช จะมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนทางสรีรวิทยาพืช โดยเมื่อพืชได้รับโซเดียมคลอไรด์ ความเป็นพิษจะเกิดขึ้นเนื่องจากผลของโซเดียมไอออน และคลอไรด์ไอออนที่มีมากเกินไป ทำให้พืชขาดน้ำ เพราะไม่สามารถดูดน้ำไปใช้ได้เพียงพอ ซึ่งพืชมีความสามารถในการบรรเทาอาการเป็นพิษจากเกลือโดยการขับเกลือเกลือที่มากเกินไปออกทางราก หรือเก็บไว้ในแวคิวโอล (Bernstein, 1964)

3. ความเครียดที่เกิดจากการสร้าง และสะสมสารอนุมูลอิสระ

เมื่อพืชได้รับความเครียดจะชักนำให้เกิดการสร้างสารอนุมูลอิสระ เช่น superoxide radicals, hydrogen peroxide (H_2O_2) และ hydroxyl radicals (OH^-) ซึ่งจะมีผล ทำลายส่วนต่างๆ ของเซลล์ เช่น โปรตีน กรดนิวคลีอิก ไขมันบริเวณต่างๆ เช่นเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้การเจริญเติบโตของพืชลดลง และพืชอาจจะตายไปในที่สุด (Bernstein, 1964)

มาตรฐานในการวัดค่าความเค็ม

วิธีวัดค่าความเค็มมีหลายวิธี แต่ที่นิยมกันโดยทั่วไปดูจากความเข้มข้นของความเค็มที่วัดได้ ซึ่งมักจะใช้การนำไฟฟ้าของสารละลาย (Electrical conductivity; EC) มีหน่วยเป็น dS/m โดยจะวัดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ประเมินปริมาณเกลือ และอิทธิพลของเกลือในสิ่งแวดล้อมที่พืชเจริญอยู่ ต่อการเจริญเติบโต ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ที่อาจสังเกตได้ดัง (ตารางที่ 1 การจำแนกระดับความเค็มที่มีผลกระทบต่อพืช) เมื่อกล้วยไม้ได้รับสภาวะความเครียดเกลือจะส่งผลให้เป็นอันตรายต่อการเจริญเติบโตที่ผิดปกติ และยังทำให้ผลผลิต และคุณภาพของกล้วยไม้ลดลง ซึ่งในปี พ.ศ. 2551-2555 มีการรายงานว่า เนื้อที่เก็บเกี่ยว และผลผลิตกล้วยไม้ลดลง สาเหตุมาจากการเกิดอุทกภัยในช่วงปลายปี 2554 ทำให้พื้นที่ปลูก และผลผลิตกล้วยไม้บางส่วนเกิดความเสียหาย ส่งผลให้แนวโน้มในภาพรวมลดลง (กรมวิชาการเกษตร, 2555) ดังนั้นการรักษาตลาดเดิมเพื่อให้มีปริมาณการจำหน่ายเท่าเดิม หรือสูงขึ้น ทำได้โดยการเพิ่มพื้นที่การผลิต ขยายพื้นที่การปลูกเลี้ยงกล้วยไม้ให้สามารถปลูกได้ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ในสภาวะที่มีอัตราส่วนน้ำเค็มมากกว่าน้ำจืด โดยใช้สารเคมีที่มีความสามารถในการลดผลกระทบที่เกิดจากความเครียดให้พืชสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติเสมือนการปลูกเลี้ยงในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต

ความเค็ม (salinity) เป็นปัญหาสำคัญที่จะไปจำกัดการเจริญเติบโตของพืช โดยอาจจะไปลดความสามารถในการเจริญเติบโต ทำให้ต้นพืชไม่สมบูรณ์ การสร้างผลผลิตของพืชก็จะต่ำ พืชที่อยู่ในสภาวะความเค็มจะมีกระบวนการทางเมแทบอลิซึมต่าง ๆ ผิดปกติไป เช่นการสะสมปริมาณ Malondialdehyde (MDA) การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ ปริมาณการสะสมโพรลีน และปริมาณน้ำตาลภายในพืช รวมถึงกิจกรรมของเอนไซม์บางชนิด เช่น SOD และ CAT

การสะสมปริมาณ Malondialdehyde (MDA) และการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์

การสะสมปริมาณสารอนุมูลอิสระ Relative oxygen species (ROS) จะพบมากกว่าปกติภายในพืชที่ได้รับสภาวะความเครียด รวมถึงสภาวะความเครียดเกลือ ส่งผลให้ ROS ทำปฏิกิริยากับไขมันที่เยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ไปทำลายองค์ประกอบภายในเซลล์ เยื่อหุ้มคลอโรพลาสต์ และไทลาคอยด์ โดยปริมาณ MDA เป็นผลผลิตของปฏิกิริยา lipid peroxidation ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวนอกจากจะทำให้เกิด MDA แล้วยังทำให้ความสามารถในการยอมให้สารผ่านเข้าออกของเยื่อหุ้มเซลล์ได้รับผลกระทบโดยทำให้เกิดการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ภายในเซลล์ ซึ่งทั้งปริมาณ MDA และปริมาณการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ จะนิยมใช้เป็นตัวชี้วัดความเสียหายของ

เซลล์เมื่อได้รับสภาวะความเครียด และใช้เป็นตัวบ่งชี้ระดับความทนเค็มของพืช (Chai et al., 2006; HongBo et al., 2005; Meloni et al., 2003; Sairam et al., 2005)

ชุติมา โฮมวงศ์ และกัลยา กองเงิน (2557) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของข้าว 3 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ทนเค็ม ทนเค็มปานกลาง และไม่ทนเค็ม ศึกษาโดยใช้ต้นกล้าของข้าวทั้ง 3 สายพันธุ์ อายุ 21 วัน แบ่งข้าวแต่ละพันธุ์ออกเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลองที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0 และ 12 ds/m เป็นเวลา 10 วัน ผลการทดลองพบว่าเมื่ออยู่ภายใต้สภาวะเครียดเกลือที่ความเข้มข้น 12 ds/m ปริมาณสารมัลลอนไดอัลดีไฮด์จะเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนพันธุ์ทนเค็ม และทนเค็มปานกลางมีปริมาณมัลลอนไดอัลดีไฮด์เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ไม่ทนเค็ม

การสะสมปริมาณโพรลีน และปริมาณน้ำตาล

โพรลีน และน้ำตาลที่สะสมในพืช จัดเป็นสาร compatible solutes เมื่อพืชอยู่ในสภาวะความเครียด พืชจะมีการปรับตัวโดยการสะสมสารชนิดดังกล่าวเพิ่มมากขึ้น เพื่อลดความเสียหายที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ และช่วยให้พืชเจริญเติบโตต่อไปได้ (Hernández & Almansa, 2002) การวัดปริมาณการสะสมโพรลีน และปริมาณน้ำตาล เพื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสรีรวิทยาของพืชเพื่อให้สามารถเจริญเติบโตภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ

ดังนั้นเมื่อพืชได้รับเกลือ จะทำให้พืชขาดน้ำ เนื่องจากมีความเข้มข้นของสารละลายสูง พืชจึงดูดน้ำไปใช้ได้ไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโต พืชจะมีการปรับตัว เพื่อกำจัดไอออนที่เป็นพิษ และเพื่อที่จะดูดน้ำไปใช้ให้ได้มากที่สุด พืชจะมีกลไกในการปรับตัวเพื่อที่จะลดค่าศักย์ออสโมติก โดยการสะสมสาร compatible osmolytes และสาร osmoprotectants (Bohnert et al., 1995) โดยพบว่าพืชที่อยู่ในสภาวะความเครียดเกลือหลายชนิดจะสะสมไกลซีนเบทาอีน และโพรลีน แต่พืชบางชนิดจะมีการสะสมในรูปของน้ำตาลอินโนซิทอล ซึ่งจะพบในพืชบางวงศ์เช่น Aizoaceae, Cyperaceae, Iridaceae, Poaceae, Primulaceae และ Zosteraceae และพืชบางชนิดจะสะสมในรูปของน้ำตาลซอบิทอล โดยพบในพืชวงศ์ Plantaginaceae และมีการสะสมน้ำตาลแมนนิทอล จะพบใน *Laguncularia racemosa* เป็นพืชวงศ์ Combretaceae เป็นต้น (Flowers & Colmer, 2008) หรือพืชบางชนิดมีกลไกในการปรับตัวเพื่ออยู่รอดในธรรมชาติได้โดยนำไอออนที่เป็นพิษไปเก็บไว้ในแวคิวโอล (Niu et al., 1995)

ส่วนปริมาณการสะสมโพรลีน ในกลุ่มควบคุมทุกสายพันธุ์มีการสะสมโพรลีนในระดับต่ำกว่ากลุ่มที่อยู่ภายใต้ความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ 12 ds/m ซึ่งจะมีการสะสมโพรลีนในปริมาณที่สูงขึ้น โดยในพันธุ์ทนเค็ม จะมีปริมาณโพรลีนน้อยที่สุด และมีมากขึ้นในพันธุ์ที่ไม่ทนเค็ม ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปริมาณโพรลีนมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเมื่อระดับความทนเค็มของพืชลดลง

นิศาชล แจ้งพรมา และคณะ (2555) ศึกษาการประเมิณการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์และระดับ MDA ของใบอ้อย 10 สายพันธุ์ ภายใต้สภาวะขาดน้ำโดยแบ่งการทดลองออกเป็นสองชุดการทดลอง ได้แก่ 1. ให้อ้อยได้รับน้ำเต็มที่ 2. ให้อ้อยขาดน้ำที่อายุวันที่ 90-100 วัน หลังการปลูกแล้วจึงให้น้ำต่อจนถึงอายุ 110 วัน ผลการทดลองพบว่าในสายพันธุ์ที่ทนแล้งซึ่งประกอบด้วย LF82-2122, K86-161 และ Khon Kaen 3 พบการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ในระดับต่ำ แสดงให้เห็นถึงการไม่ถูกทำลายของเยื่อหุ้มเซลล์ ในขณะที่อีก 7 สายพันธุ์ที่เหลือจะพบปริมาณการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์เพิ่มมากขึ้นเมื่ออ้อยอยู่ในสภาวะแล้ง หรืออ้อยขาดน้ำ ส่วนการวัดปริมาณ MDA พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติทั้งปัจจัยระหว่างพันธุ์ และระดับการให้น้ำ

กิจกรรมของเอนไซม์ SOD และเอนไซม์ CAT

SOD จัดเป็นเอนไซม์ antioxidant โดยปกติเมื่อพืชอยู่ในสภาวะความเครียดพืชจะสะสมสารอนุมูลอิสระในปริมาณที่มากกว่าพืชที่อยู่ในสภาวะปกติ ซึ่งเกิดจากกระบวนการ peroxidation ดังนั้นบทบาทของเอนไซม์ SOD จะมีหน้าที่ในการกำจัดสารอนุมูลอิสระ (free radical) ที่เกิดขึ้นโดย SOD จะทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยารีดักชั่น และเอนไซม์ CAT จะทำหน้าที่ในการกำจัดสารที่ได้จากการรีดักชั่นของ SOD เพื่อปกป้องเซลล์จากอันตราย (Xue & Liu, 2008)

Xue & Liu (2008) ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ และลักษณะทางสรีรวิทยาในใบเยรูซาเลม อาร์ติโชค 2 สายพันธุ์ ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ ซึ่งประกอบด้วยสายพันธุ์ Defeng ซึ่งเป็นสายพันธุ์ทนเค็ม และสายพันธุ์ Wuix เป็นสายพันธุ์ที่ไม่ทนเค็มเพาะเลี้ยงในสารละลายที่ประกอบด้วยเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้น 0 75 150 และ 225 มิลลิโมลาร์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน ผลการทดลองพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ SOD, CAT และ peroxidase เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากต้นเยรูซาเลม อาร์ติโชคสายพันธุ์ทนเค็มมีความสามารถในการป้องกัน และต่อต้านสารอนุมูลอิสระโดยการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อเปรียบเทียบกับปัจจัยควบคุมในขณะที่สายพันธุ์ไม่ทนเค็มมีปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลง และพบการถูกทำลายของเยื่อหุ้มเซลล์จากปฏิกิริยา lipid peroxidation ทำให้ค่าการสังเคราะห์แสง การเปิดปิดปากใบลดลงเพื่อตอบสนองต่อ NaCl

ธาราทิพย์ สอดสุข และคณะ (2551) ศึกษาอิทธิพลความเค็มของน้ำจากเกลือสมุทรต่อการเจริญเติบโต และอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์เอียสกุลที่อายุ 3 9 และ 24 เดือนหลังย้ายปลูกจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาปลูกเลี้ยงในโรงเรือน โดยรดด้วยน้ำที่มีความเค็ม 4 ระดับ คือ 0 2 4 และ 8 dS/m ทุกเช้าติดต่อกันเป็นเวลา 1 เดือน พบว่าการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ในอายุเดือนต่างๆลดลงจากการเจริญเติบโตปกติเมื่อได้รับความเค็มที่สูงขึ้นโดยต้นที่มีอายุ 3 เดือน มีการตอบสนองต่อความเค็มของน้ำอย่างเห็นได้ชัดคือ ปรากฏอาการใบเหลือง มีความเขียวใบความสูงต้น และเส้นผ่านศูนย์กลางต้นลดลง ต้นที่มีอายุ 9 และ 24 เดือน มีแนวโน้มความเขียวใบลดลง การแตกหน่อใหม่ช้าลง หน่อใหม่มีความสูงต้นลดลง นอกจากนี้ความเค็มจากน้ำ 4 และ 8 dS/m มีผลทำให้อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง และค่าการเปิด-ปิดปากใบในรอบวันลดลงด้วย เมื่อ

อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลงก็จะไปมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยไปลดพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตได้

Al-Shorafa et al. (2014) ศึกษาการวัดค่าการทนเค็มในสตอเบอรี่ 2 สายพันธุ์ โดยใช้สตอเบอรี่ 2 สายพันธุ์ คือ Camarosa และ Albino โดยให้ได้รับความเข้มข้นเกลือ 6 ระดับคือ 0 25 50 75 100 และ 150 มิลลิโมลาร์ ใส่ลงใน half strength Hoagland และให้น้ำกลั่นร่วมกับ half strength Hoagland เป็นชุดควบคุม ผลการทดลองพบว่าการเจริญเติบโต (จำนวนใบ, ยอด น้ำหนักแห้งของยอด, ราก และน้ำหนักแห้งของราก/ยอด) และปริมาณ chlorophyll ลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น ส่วนปริมาณการสะสมโพรลีนเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่สูงขึ้น โดยในสายพันธุ์ Albino จะมีค่ามากกว่าสายพันธุ์ Camarosa

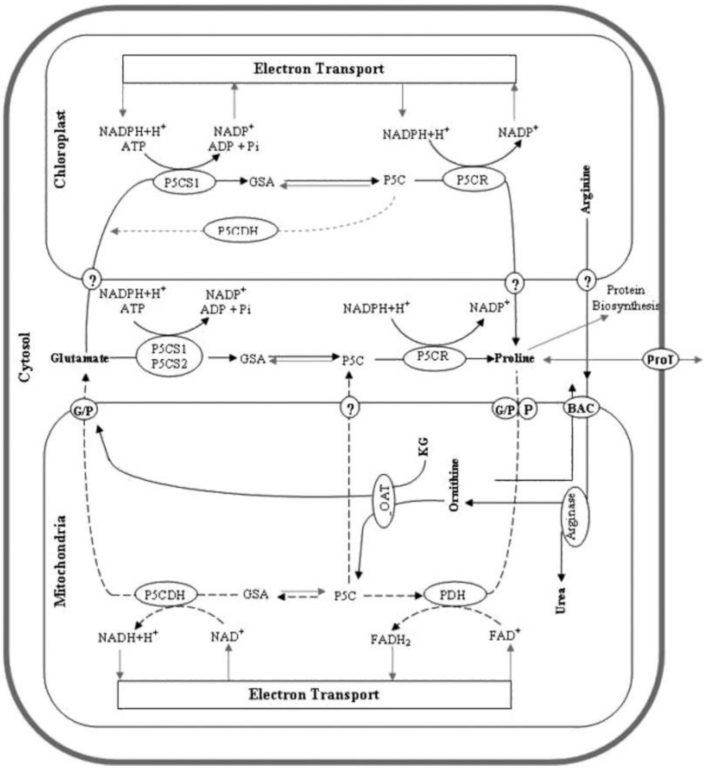
L-Proline

โพรลีนเป็นสารออสโมโพรเทคแทนต์ (osmoprotectants) อยู่ในกลุ่มของกรดอะมิโน ถูกสร้างขึ้นมาจากกรดกลูตามิค ทำหน้าที่ในการช่วยปรับสมดุลของน้ำและแรงดันออสโมติกภายในเซลล์กับสิ่งแวดล้อม (Boggess et al., 1976) เซลล์สามารถสะสมโพรลีนได้ 2 กลไก (ชุติมา โฮมวงศ์ และกัลยา กองเงิน, 2557)

1. การสะสมสารด้วยการสังเคราะห์ของพืช
2. การนำสารจากสิ่งแวดล้อมเข้าสู่เซลล์

กระบวนการสังเคราะห์โพรลีนในพืช

พืชมีกระบวนการสังเคราะห์โพรลีน 2 กระบวนการผ่าน glutamate และ orinitine โดยในสภาวะปกติเมื่อพืชอยู่ในระยะเจริญพัฒนาของเมล็ด พืชจะสังเคราะห์โพรลีนผ่าน orinitine แต่เมื่อพืชได้รับความเครียดที่เกิดจาก osmotic stress พืชจะสังเคราะห์โพรลีนผ่าน glutamate pathway ซึ่งมี Δ’-pyrroline-5-carboxylate (P5C) เป็น intermediate ตัวสำคัญในการเปลี่ยน glutamate เป็น proline ใน cytosol (รูปที่ 1) (Armengaud et al., 2004; Roosens et al., 1998; Sekhar et al., 2007; Xue et al., 2009)



รูปที่ 1 การสังเคราะห์โพรลีน (Szabados & Savoure, 2010)

โพรลีนช่วยลดแรงดันออสโมติก ทำให้พืชสามารถเจริญได้ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ (วิชิตพล มีแก้ว และคณะ, 2553) ซึ่งโพรลีนเป็นกรดโปรตีโนเจนิกอะมิโนใช้ในการสังเคราะห์โปรตีน ซึ่งเป็นกรดอะมิโนในกลุ่มไม่มีขั้ว (nonpolar) โดยแบ่งตามหมู่อนุพันธ์ (R-group) มีหมู่ข้างเป็นไซคลิกและเชื่อมต่อกับหมู่ เอ-อะมิโนโดยมีโครงสร้างทางเคมีเป็น C_5–H_9-NO_2 น้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) เท่ากับ 115.13 โดยรูปแบบที่เป็นอิสระ (free form) จะอยู่ในรูป L-proline ช่วยในการงอกของตา การผสมเกสร และการออกผลทำให้ผลใหญ่ เพิ่มความหวาน เพิ่มรสชาติ ช่วยพืชจากภาวะความเครียด เช่น สภาวะน้ำท่วม จากความร้อน และจากสภาวะดินเค็ม รวมถึงการสูญเสียของเซลล์และการควบคุมการเจริญเติบโต

Deivanai et al. (2011) ศึกษาผลของ exogenous proline ภายใต้สภาวะความเค็มต่อการงอกของเมล็ดในข้าว 2 สายพันธุ์ (MR220 และ MR232) พบว่าเมล็ดที่ได้รับความเข้มข้นของ NaCl ที่เพิ่มขึ้น (0 100 200 300 และ 400 มิลลิโมลาร์) มีร้อยละการงอกของเมล็ด ความยาวของลำต้นและราก (mm) ปริมาณคลอโรฟิลล์ และโปรตีนลดลง แต่เมื่อให้โพรลีนในความเข้มข้นต่างๆ (15 และ 10 มิลลิโมลาร์) ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ทุกความเข้มข้นดังกล่าว พบว่าเมล็ดสามารถงอก และเจริญเติบโตได้ แตกต่างกับการได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์เพียงอย่างเดียว โดยโพรลีนที่ความเข้มข้นเพียง 1 มิลลิโมลาร์ พบว่าสามารถทำให้เกิดการเจริญเติบโตของเมล็ด และกระตุ้นการทำงานของเซลล์ได้ ซึ่งถึงแม้ว่าการใช้โพรลีนจะช่วยให้เมล็ดข้าวสามารถงอก และเจริญเติบโตได้ แต่ในความ

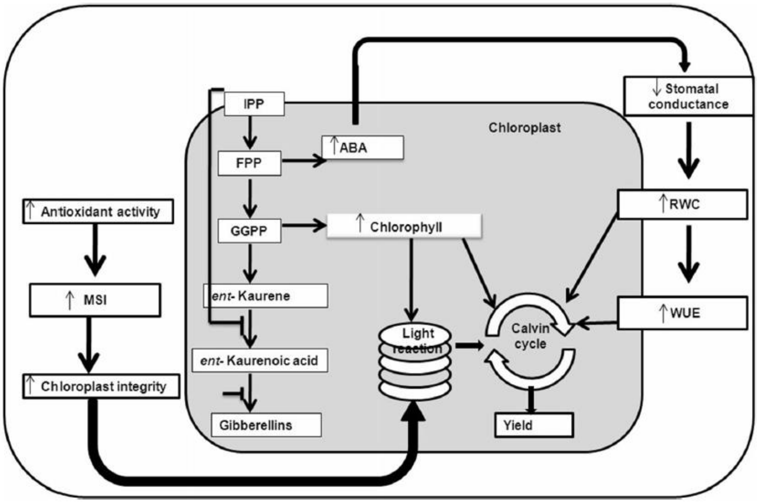
เข้มข้นของ NaCl ที่สูงเกินไป (300 และ 400 มิลลิโมลาร์) พบว่าโพรลีนที่ความเข้มข้นสูงสุด (10 มิลลิโมลาร์) ยังไม่สามารถทำให้เกิดการเจริญเติบโตของเมล็ดได้

Medeiros et al. (2015) ศึกษาผลของ Exogenous Proline ในอ้อย 2 จีโนไทป์ ต่อการเจริญเติบโตในหลอดทดลองภายใต้ความเครียดที่เกิดจากความเค็ม โดยนำอ้อยทั้ง 2 จีโนไทป์ (RB31011 และ RB872552) มาเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองโดยแบ่งเป็น 4 ปัจจัยคือ 1. ชุดควบคุม 2. แช่ชิ้นส่วนอ้อยในโพรลีน 20 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชม. ก่อนนำมาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ร่วมอยู่ 100 มิลลิโมลาร์ 3. แช่ในโพรลีน 20 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 72 ชม. ก่อนนำมาเลี้ยงบนอาหารที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ร่วมอยู่ 100 มิลลิโมลาร์ และปัจจัยสุดท้ายประกอบด้วยอาหารที่มีโพรลีน 20 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 มิลลิโมลาร์ พบว่าการเติมโพรลีนลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะเพิ่มการสะสมโพรลีนภายในเซลล์ของอ้อยทั้ง 2 จีโนไทป์ ในจีโนไทป์ RB872552 ที่แช่ในโพรลีน 20 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 72 ชม. ไม่มีการสะสมของโพรลีนเพื่อตอบสนองต่อเกลือโซเดียมคลอไรด์ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ส่วนจีโนไทป์ RB931011 ทุกๆปัจจัยมีการสะสมของ Endogenous Proline เพิ่มขึ้นเพื่อตอบสนองต่อเกลือโซเดียมคลอไรด์เมื่อเทียบกับปัจจัยควบคุม

นอกจากโพรลีนแล้วยังมีสารอีกหลายชนิดได้แก่ เอบีเอ, กลูตาไทโอน และพาโคลบิวทราโซล ที่ช่วยลดกระทบจากสภาวะความเครียดเกลือ โดยที่จะกล่าวถึงนี้คือ สารพาโคลบิวทราโซล

Paclobutrazol (PBZ)

พาโคลบิวทราโซล (Paclobutrazol หรือ PBZ) มีชื่อทางเคมีคือ (2*RS*, 3*RS*)-1-(4-Chlorophenyl)-4,4-dimethyl-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl) pentan-3-ol เป็นสารประกอบในกลุ่มไทรอะโซล (Triazole) มีบทบาทในการยับยั้งการเจริญเติบโตและเป็นสารฆ่าเชื้อราในพืช (Jaleel et al., 2008) เป็นสารชะลอหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช ออกฤทธิ์ในทางตรงข้ามกับจิบเบอเรลลิน โดยจะยับยั้งการสังเคราะห์จิบเบอเรลลินใน Terpenoid pathway เป็นผลมาจากการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ *ent*-kaurene oxidase (KO) ทำให้พืชมีข้อปล้องสั้น (Steffens et al., 1992) นอกจากนี้การยับยั้งการทำงานของ KO ยังส่งเสริมให้พืชมีการสังเคราะห์ Abscisic acid (ABA) เพิ่มมากขึ้น เนื่องจากพืชมีการสะสมสารตั้งต้นคือ Farnesyl diphosphate (FPP) และ Geranyl geranyl diphosphate (GGPP) ที่ใช้ในการสังเคราะห์ ABA และคลอโรฟิลล์เพิ่มมากขึ้น ซึ่ง ABA มีผลในการช่วยลดการชักนำการเปิดปากใบ (stomatal conductance) ทำให้พืชมีการคายน้ำได้น้อยลง นอกจากนี้ PBZ ยังส่งเสริมกิจกรรมของเอนไซม์แอนตี้ออกซิแดนท์ ลดการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation ทำให้เกิดความแข็งแรงของเยื่อหุ้มเซลล์และส่งเสริมให้ chloroplast (รูปที่ 2) (Marshall et al., 1991; Rademacher, 1997) มีความสมบูรณ์แข็งแรง ในรายงานของ Davis et al., 1988 กล่าวถึงการตอบสนองของพืชต่อสารในกลุ่มไทรอะโซลว่ามีความแตกต่างกันไปตามชนิดพืช อายุพืช พันธุ์พืช ปริมาณสารที่ให้แก่พืชและวิธีการให้สาร นอกจากนี้สารพาโคลบิวทราโซลยังสามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของราก เร่งให้เกิดดอก ทำให้ออกลูกเร็ว และเพิ่มการผลิตเมล็ดในพืชบางชนิด



รูปที่ 2 การทำงานของ PBZ ในเซลล์พืช (Soumya, 2014)

PBZ ถูกใช้ในการจัดสวนเพื่อลดการเจริญเติบโตของยอด ใช้ได้ผลดีกับไม้พุ่มและไม้ต้น ช่วยเพิ่มความทนทานต่อความเครียดจากความแล้ง เกิดใบไม้สีเขียวเข้ม มีความต้านทานต่อเชื้อรา และแบคทีเรียเพิ่มขึ้น และเพิ่มการพัฒนาของราก การเจริญของแคมเบียมเช่นเดียวกับการยับยั้งการเจริญของยอดในไม้ต้นบางชนิดป้องกันพืชจากสภาวะเครียดต่าง ๆ เช่น สภาวะแล้ง อุณหภูมิสูง (Baninasab & Ghobadi, 2011) และสภาวะเครียดเกลือ (Sharma et al., 2011) ในพืชบางชนิด เช่น ข้าวสาลี และข้าวบาร์เลย์ เป็นต้น (Hajihashemi et al., 2007; Özmen et al., 2003)

สุมาลี คงสอดทรัพย์ และวัฒนา พัฒนากูล (2555) ศึกษาผลของการแช่เมล็ดในกรดแอบซิสิก และพาโคลบิวทราโซล ต่ออัตราการงอกและการเจริญเติบโต ของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (*Oryza sativa* L.) ในสภาวะแล้ง โดยแช่เมล็ดข้าวในสารละลายต่างๆแบ่งออกเป็น 4 กลุ่มคือ 1. กลุ่มควบคุม (ไม่แช่สารละลาย) 2. แช่เมล็ดข้าวในกรดแอบซิสิก (ABA) 3. แช่ในสารละลายพาโคลบิวทราโซล (PBZ) และ 4. แช่ลงในสารละลาย ABA ร่วมกับ PBZ เข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร และนำไปเพาะเลี้ยงบนดินโดยปลูกในกระถางเป็นเวลา 14 วัน งดให้น้ำ 10 วัน ผลการศึกษาพบว่า การเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวที่ปลูกในสภาวะแล้ง การแช่เมล็ดข้าวใน ABA และใน PBZ ทำให้การเจริญเติบโตและปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้แช่ ในขณะที่กลุ่มที่แช่ใน ABA ร่วมกับ PBZ จะให้ผลดีที่สุดโดยต้นกล้าข้าวจะมีความสามารถในการทนแล้งได้ดีกว่ากลุ่มอื่น ๆ เนื่องจากสารดังกล่าวมีคุณสมบัติช่วยให้พืชอยู่รอดได้ในสภาวะความเครียด โดยเมื่อพืชได้รับความเครียดจะสะสม ABA เพิ่มมากขึ้นจะมีผลทำให้พืชปิดปากใบจึงลดการคายน้ำของพืชได้และยังไปกระตุ้นให้มีการสะสมสารที่ช่วยลดผลกระทบที่เกิดจากความเครียด เช่น โพรลีน น้ำตาล เพื่อปรับสมดุลของน้ำในพืช (Chandler & Robertson, 1994)

Hajihashemi et al. (2007) ศึกษาผลของการให้สาร Paclobutazol (PBZ) ต่อการเจริญเติบโตในสภาวะความเครียดที่เกิดจากเกลือในข้าวสาลีโดยใช้ข้าวสาลี 2 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ทนเค็ม (Karchai-65) และสายพันธุ์ปกติ (Ghods) ทำการฉีดพ่น PBZ ความเข้มข้น 0 และ 30 ppm

ลงบนต้นกล้าของข้าวสาลี หลังจากนั้นนำไปเลี้ยงในระบบไฮโดรโปรนิกส์ที่มีความเข้มข้นของเกลือ NaCl 0, 75, 150 และ 225 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าในสายพันธุ์ปกติได้รับผลกระทบจากเกลือมากกว่าสายพันธุ์ที่ทนเค็มแต่เมื่อได้รับ PBZ สายพันธุ์ปกติมีการตอบสนองต่อ PBZ มากกว่าสายพันธุ์ที่ทนเค็มโดย PBZ ส่งเสริมการเจริญของราก เพิ่มการสะสม K^+, P, N ในใบและรากในความเค็มที่เพิ่มขึ้น ทำให้มีการสะสม Na^+ ลดลงเพื่อปรับสมดุลแร่ธาตุ

งานวิจัยที่เกี่ยวกับการทนเค็มของพืชในหลอดทดลอง

Da Silva (2015) ศึกษาอัตราการรอดของ protocorm-like bodies (PLBs) ของกล้วยไม้ *Cymbidium* Twilight Moon สายพันธุ์ 'Day Light' ในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร Teixeira *Cymbidium* (TC) ร่วมกับช่วงความเข้มข้นของเกลือจาก 5-200 มิลลิโมลาร์ โดยทำการเปลี่ยนย้าย (Subculture) อาหารลงอาหารใหม่ที่มีความเข้มข้นเกลือเดิมเมื่อครบ 30 วัน พบว่าในอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือ 5 และ 10 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการรอดชีวิตสูง และนำไป Subculture ต่อลงอาหารที่มีความเข้มข้นเกลือ 10 มิลลิโมลาร์ จำนวน 4 ครั้งหลังจากนั้นนำ PLBs ที่รอดชีวิตไป Subculture ต่อลงอาหารที่มีความเข้มข้นเกลือ 15-40 มิลลิโมลาร์ ต่อไป โดยจะสรุปได้ว่า PLBs ที่เจริญในอาหารที่ประกอบด้วยความเข้มข้นของเกลือ NaCl 5 หรือ 10 มิลลิโมลาร์ มีความสามารถในการปรับตัวและนำย้ายลงอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่มากกว่าจนถึง 40 มิลลิโมลาร์ ได้ ในขณะที่ PLBs ในอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์มากกว่า 20 มิลลิโมลาร์ไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้

Teh et al. (2015) ทดสอบประสิทธิภาพของ proline และ glutathione ในการช่วยลดผลกระทบที่เกิดจากความเครียดที่เกิดจากความเค็มในยอดของข้าวมาเลเซียสองสายพันธุ์ คือ MR-220 และ MR 253 ในหลอดทดลอง พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่สูงขึ้น (150 200 250 และ 300 มิลลิโมลาร์) ทำให้การเจริญของต้นข้าวลดลง โดยส่งผลให้ความสูงต้น ความยาวราก น้ำหนักสด และปริมาณคลอโรฟิลล์ลดลง แต่เมื่อเติม proline และ glutathione ลงในอาหาร จะชักนำให้ผลกระทบที่เกิดจากความเค็มลดลง พืชมีการเจริญเติบโตเพิ่มสูงขึ้น

Watanabe et al. (2000) ศึกษาผลของความเค็ม และความเครียดออสโมติกต่อการสะสมปริมาณโพรลีน และน้ำตาลใน *Populus euphratica* สองสายพันธุ์ (*P. euphratica* และ *P. euphratica* ลูกผสม) โดยทำการทดลองแบ่งชุดการทดลองออกเป็น 2 ชุด กลุ่มที่ 1 ให้พืชได้รับ mannitol ระดับความเข้มข้น 0 200 300 และ 400 มิลลิโมลาร์ โดยใส่ลงในอาหาร ½ MS และกลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0 50 150 และ 250 มิลลิโมลาร์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ สังเกตการเปลี่ยนแปลงทั้งความยาวต้น จำนวนใบ น้ำหนักแห้ง การสะสมโพรลีน และปริมาณน้ำตาลในใบ พบว่า *P. euphratica* สามารถอยู่รอดได้ในทุกระดับความเข้มข้นของ mannitol และเกลือโซเดียมคลอไรด์ ในขณะที่การตายของ *P. euphratica* ลูกผสมเพิ่มขึ้นในทั้ง 2 ชุดการทดลอง โดยปริมาณการสะสมโพรลีนที่เพิ่มขึ้นพบใน *P. euphratica* ที่

mannitol ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ และที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 150 มิลลิโมลาร์ ส่วนปริมาณการสะสมน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นพบใน *P. euphratica* ที่เจริญในอาหารที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 250 มิลลิโมลาร์ และในการทดลองนี้ยังพบว่าการสะสมโพรลีนและปริมาณน้ำตาลจะช่วยสนับสนุนให้เกิดการทนเค็มในพืช ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโต และการปรับสมดุลออสโมติกในพืช

Amini & Ehsanpour (2005) ศึกษาผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารละลายโปรตีน โพรลีน คาร์โบไฮเดรต และปริมาณ Na^+/K ในมะเขือเทศ สองสายพันธุ์ (Isfahani และ Shirazy) ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือในหลอดทดลอง ทำการทดลองโดยการเพาะเมล็ดลงบนอาหารสังเคราะห์ หลังจากนั้นเมื่อเกิดเป็นต้นนำย้ายลงอาหาร MS ร่วมกับ เกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 0 40 80 120 และ160 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 21 วัน พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่เพิ่มขึ้นทำให้สารละลายโปรตีนเพิ่มขึ้นในสายพันธุ์ Isfahani แต่ลดลงในสายพันธุ์ Shirazy และเมื่อมีปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ในอาหารเพิ่มขึ้นจะส่งเสริมให้มีปริมาณโพรลีนเพิ่มขึ้นในส่วนของใบ ลำต้นและรากในมะเขือเทศทั้งสองสายพันธุ์ อย่างไรก็ตามปริมาณโพรลีนจะพบมากในสายพันธุ์ Shirazy มากกว่าซึ่งพบในใบ และลำต้นมากกว่าในรากทั้งสองสายพันธุ์ การตอบสนองต่อการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของเกลือในอาหาร ทำให้มีการสะสมปริมาณคาร์โบไฮเดรตในสายพันธุ์ Shirazy เพิ่มขึ้น แต่ลดลงในสายพันธุ์ Isfahani ส่วนความเข้มข้นของเกลือที่มากกว่าจะทำให้เกิดการสะสมปริมาณคาร์โบไฮเดรตในรากเพิ่มขึ้นทั้งสองสายพันธุ์และความเข้มข้นของเกลือที่สูงจะมีผลลดปริมาณการสะสมน้ำตาลในใบ ลำต้นและรากของทั้งสองสายพันธุ์ ความเครียดเกลือยังทำให้การสะสม Na^+ เพิ่มขึ้น และลดปริมาณ K^+ ในมะเขือเทศทั้งสองสายพันธุ์

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

1. พืชที่ใช้ในการทดลอง

กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ *Dendrobium* ‘Sonia Jo Daeng’ หรือกล้วยไม้สกุลหวาย *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 L-proline ($C_5H_9NO_2$, MW=115.13 g/mol) (Himedia, CAS No. 147-85-3)

3.1.4 พาโคลบิวทราโซล (Paclobutrazol) (Alfa Aesar, CAS No. 76738-62-0)

3.1.5 น้ำตาลทราย

3.1.6 ผงวุ้น

3.1.7 เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl alcohol) 70% และ 95%

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)

มหาวิทยาลัยศิลปากร

การทดลองที่ 1 ผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ในความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง

1. ย้ายต้นกล้วยไม้สายพันธุ์ลูกผสม *Dendrobium* 'Sonia Jo Daeng' ขนาดความสูง 0.7-1.0 เซนติเมตร น้ำหนักสด 0.12-0.15 กรัม ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหาร VW ร่วมกับน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร ลงบนอาหารที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยแบ่งออกเป็น 4 สูตร สูตรละ 15 ต้น ดังนี้

สูตรที่ 1 control ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 0 มิลลิโมลาร์
สูตรที่ 2 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 100 มิลลิโมลาร์ (EC = 2 ds/m)
สูตรที่ 3 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 200 มิลลิโมลาร์ (EC = 4 ds/m)
สูตรที่ 4 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 300 มิลลิโมลาร์ (EC = 6 ds/m)

2. นำไปเลี้ยงในสภาพที่มีอุณหภูมิ 25±1˚C ความเข้มแสง 35-40 $\mu M.m^{-2}.s^{-1}$ โดยให้แสง 16 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลา 10 สัปดาห์

3. สังเกตการเปลี่ยนแปลงของต้นกล้วยไม้บนอาหารแต่ละสูตร

บันทึกผลการทดลอง
อัตราการรอดชีวิต
ระยะเวลาการรอดชีวิต
จำนวนต้นกล้วยไม้ที่ลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์
ค่าความเป็นพิษของเกลือโซเดียมคลอไรด์ (LC_{50})
การเจริญเติบโต (น้ำหนักสด - แห้ง ความสูงต้น ความยาวราก จำนวนใบ และจำนวนราก)

การทดลองที่ 2 ผลของโพรลีน และพาโคลบิวทราโซลในความเข้มข้นต่างๆที่ทำให้กล้วยไม้สกุลหวายสามารถเจริญเติบโตได้ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือในหลอดทดลอง

1. ย้ายต้นกล้วยไม้ที่มีขนาดความสูงต้น 0.7-1.0 เซนติเมตร และน้ำหนัก 0.12-0.15 กรัม เท่าๆกัน จากอาหาร VW + น้ำมะพร้าว 150 ml/L ลงบนอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือ 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับโพรลีน หรือพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้นต่างๆ คือ
   a. ความเข้มข้นของเกลือ (NaCl) 200 mM (ตาย 50%)
      สูตรที่ 1 control ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 200 มิลลิโมลาร์
      สูตรที่ 2 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 200 มิลลิโมลาร์ + Proline 1.25 มิลลิโมลาร์
      สูตรที่ 3 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 200 มิลลิโมลาร์ + Proline 2.5 มิลลิโมลาร์
      สูตรที่ 4 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 200 มิลลิโมลาร์ + Proline 5.0 มิลลิโมลาร์
      สูตรที่ 5 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 200 มิลลิโมลาร์ + Proline 7.5 มิลลิโมลาร์

สูตรที่ 6 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 200 มิลลิโมลาร์ + Proline 10.0 มิลลิโมลาร์
สูตรที่ 7 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 200 มิลลิโมลาร์ + PBZ 1.7 ไมโครโมลาร์
สูตรที่ 8 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 200 มิลลิโมลาร์ + PBZ 3.4 ไมโครโมลาร์
สูตรที่ 9 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 200 มิลลิโมลาร์ + PBZ 6.8 ไมโครโมลาร์
สูตรที่ 10 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 200 มิลลิโมลาร์ + PBZ 13.6 ไมโครโมลาร์
สูตรที่ 11 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 200 มิลลิโมลาร์ + PBZ 27.2 ไมโครโมลาร์

b. ความเข้มข้นของเกลือ (NaCl) 300 มิลลิโมลาร์ (ตาย 100%)
สูตรที่ 1 control ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 300 มิลลิโมลาร์
สูตรที่ 2 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 300 มิลลิโมลาร์ + โพรลีน 1.25 มิลลิโมลาร์
สูตรที่ 3 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 300 มิลลิโมลาร์ + โพรลีน 2.5 มิลลิโมลาร์
สูตรที่ 4 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 300 มิลลิโมลาร์ + โพรลีน 5.0 มิลลิโมลาร์
สูตรที่ 5 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 300 มิลลิโมลาร์ + โพรลีน 7.5 มิลลิโมลาร์
สูตรที่ 6 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 300 มิลลิโมลาร์ + โพรลีน 10.0 มิลลิโมลาร์
สูตรที่ 7 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 300 มิลลิโมลาร์ + PBZ 1.7 ไมโครโมลาร์
สูตรที่ 8 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 300 มิลลิโมลาร์ + PBZ 3.4 ไมโครโมลาร์
สูตรที่ 9 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 300 มิลลิโมลาร์ + PBZ 6.8 ไมโครโมลาร์
สูตรที่ 10 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 300 มิลลิโมลาร์ + PBZ 13.6 ไมโครโมลาร์
สูตรที่ 11 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 300 มิลลิโมลาร์ + PBZ 27.2 ไมโครโมลาร์
*สูตรละ 10 ต้น

2. นำไปเลี้ยงในสภาพที่มีอุณหภูมิ 25±1°C ความเข้มแสง 35-40 $\mu M.m^{-2}.s^{-1}$ โดยให้แสง16 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลา 10 สัปดาห์
3. สังเกตการเปลี่ยนแปลงของต้นกล้วยไม้บนอาหารแต่ละสูตร

บันทึกผลการทดลอง

อัตราการรอดชีวิต
ระยะเวลาการรอดชีวิต
จำนวนต้นกล้วยไม้ที่ลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์
การเจริญเติบโต (น้ำหนักสด-แห้ง ความสูงต้น ความยาวราก จำนวนใบและราก)

การทดลองที่ 3 ผลของการเพาะเลี้ยงต้นกล้วยไม้บนอาหารที่มีโพรลีน และพาโคลบิวทราโซลในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นระยะเวลา 7 วันก่อนได้รับความเครียดจากเกลือในหลอดทดลอง

1. ย้ายต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร VW + น้ำมะพร้าว 150 ml/L ความสูงต้น 0.7-1.0 เซนติเมตร และน้ำหนัก 0.12-0.15 กรัม เท่าๆกัน โดยแบ่งเป็น 11 สูตร สูตรละ 10 ต้น

   สูตรที่ 1 ประกอบด้วยอาหาร VW + โพรลีน 0 มิลลิโมลาร์
   สูตรที่ 2 ประกอบด้วยอาหาร VW + โพรลีน 1.25 มิลลิโมลาร์
   สูตรที่ 3 ประกอบด้วยอาหาร VW + โพรลีน 2.5 มิลลิโมลาร์
   สูตรที่ 4 ประกอบด้วยอาหาร VW + โพรลีน 5.0 มิลลิโมลาร์
   สูตรที่ 5 ประกอบด้วยอาหาร VW + โพรลีน 7.5 มิลลิโมลาร์
   สูตรที่ 6 ประกอบด้วยอาหาร VW + โพรลีน 10.0 มิลลิโมลาร์
   สูตรที่ 7 ประกอบด้วยอาหาร VW + PBZ 1.7 ไมโครโมลาร์
   สูตรที่ 8 ประกอบด้วยอาหาร VW + PBZ 3.4 ไมโครโมลาร์
   สูตรที่ 9 ประกอบด้วยอาหาร VW + PBZ 6.8 ไมโครโมลาร์
   สูตรที่ 10 ประกอบด้วยอาหาร VW + PBZ 13.6 ไมโครโมลาร์
   สูตรที่ 11 ประกอบด้วยอาหาร VW + PBZ 27.2 ไมโครโมลาร์

2. นำไปเลี้ยงในสภาพที่มีอุณหภูมิ 25±1˚C ความเข้มแสง 35-40 $\mu M.m^{-2}.s^{-1}$ โดยให้แสง 16 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลา 7 วัน
3. ย้ายต้นกล้วยไม้ทุกทรีตเมนต์ลงบนอาหาร VW ที่มีความเข้มข้นของเกลือ (NaCl) 200 และ 300 มิลลิโมลาร์
4. นำไปเลี้ยงในสภาพที่มีอุณหภูมิ 25±1˚C ความเข้มแสง 35-40 $\mu M.m^{-2}.s^{-1}$ โดยให้แสง16 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลา 10 สัปดาห์
5. สังเกตการเปลี่ยนแปลงของต้นกล้วยไม้บนอาหารแต่ละสูตร

   บันทึกผลการทดลอง

      อัตราการรอดชีวิต
      ระยะเวลาการรอดชีวิต
      จำนวนต้นกล้วยไม้ที่ลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์
      การเจริญเติบโต (น้ำหนักสด-แห้ง ความสูงต้น ความยาวราก จำนวนใบและราก)

การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของการให้โพรลีน และพาโคลบิวทราโซลก่อนได้รับหรือเมื่อได้รับความเครียดเกลือ (NaCl) ต่อการเติบโตและการวิเคราะห์ลักษณะทางสรีรวิทยาของกล้วยไม้สกุลหวาย ‘Sonia Jo Daeng’

เลือกต้นกล้วยไม้ในสูตรอาหารที่ทำให้การเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในการทดลองที่ 2 และการทดลองที่ 3 นำมาวิเคราะห์ลักษณะทางสรีระวิทยา โดยวัดปริมาณโพรลีนตามวิธีของ Bates et al., 1973 ปริมาณน้ำตาลโดยวิธีของ Roberts et al., 1959 การรั่วไหลของอิเล็กทรอไลต์ (EL) ตามวิธีของ Mao et al., 2007 ปริมาณ Malondialdehyde โดยวิธีของ Health and Packer, 1968 กิจกรรมของเอนไซม์ SOD โดยวิธีของ Asada et al.,1974 และ CAT โดยวิธีของ Jamec (2007) และ Aebi (1974)

- ย้ายต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร VW + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร ความสูงต้น 0.7-1.0 เซนติเมตร และน้ำหนัก 0.12-0.15 กรัม เท่าๆกัน โดยแบ่งเป็น 7 สูตร ดังนี้

สูตรที่ 1 ประกอบด้วยอาหาร VW
สูตรที่ 2 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 200 มิลลิโมลาร์
สูตรที่ 3 ประกอบด้วยอาหาร VW (ซึ่งได้รับเป็นเวลา 7 วัน) ก่อนย้ายลงอาหาร VW + NaCl 200 มิลลิโมลาร์
สูตรที่ 4 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 200 มิลลิโมลาร์ + โพรลีน 5.0 มิลลิโมลาร์
สูตรที่ 5 ประกอบด้วยอาหาร VW + โพรลีน 5 มิลลิโมลาร์ (ซึ่งได้รับเป็นเวลา 7 วัน) ก่อนย้ายลงอาหาร VW + NaCl 200 มิลลิโมลาร์
สูตรที่ 6 ประกอบด้วยอาหาร VW + NaCl 200 มิลลิโมลาร์ + PBZ 6.8 ไมโครโมลาร์
สูตรที่ 7 ประกอบด้วยอาหาร VW + PBZ 6.8 ไมโครโมลาร์ (ซึ่งได้รับเป็นเวลา 7 วัน) ก่อนย้ายลงอาหาร VW + NaCl 200 มิลลิโมลาร์

- นำไปเลี้ยงในสภาพที่มีอุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 35-40 $\mu M.m^{-2}.s^{-1}$ โดยให้แสง16 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลา 10 สัปดาห์

- สังเกตการเปลี่ยนแปลงของต้นกล้วยไม้บนอาหารแต่ละสูตร

บันทึกผลการทดลอง

ลักษณะทางสรีรวิทยาบางประการที่เปลี่ยนแปลงไปในสัปดาห์ที่ 3 และ 7

- วิเคราะห์ปริมาณ Malondialdehyde (MDA)
- วิเคราะห์การรั่วไหลของอิเล็กไลต์ (Electrolyte Leakage)
- วิเคราะห์ปริมาณโพรลีน (Proline)
- วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล (Solution sugar)

- การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ SOD
- การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ CAT

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ใช้โปรแกรม spss โดยใช้สถิติแบบ one way anova เพื่อหาความแตกต่างของกลุ่มทดลอง โดยใช้ Duncan’s multiple range tast ที่ระดับความเชื่อมั่น $p \leq 0.05$ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

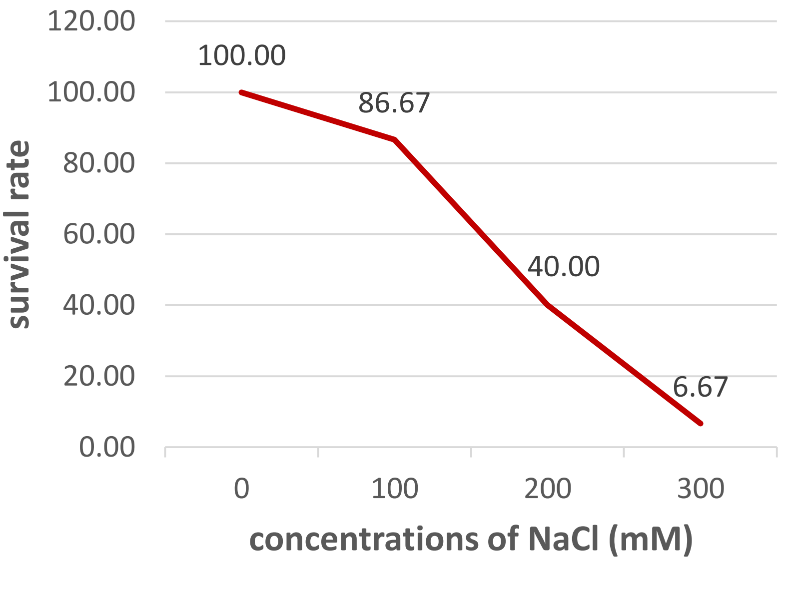
บทที่ 4

ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ศึกษาอิทธิพลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อการทนเค็มของกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลองโดยแบ่งออกเป็น 4 การทดลอง

4.1 **ผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง**

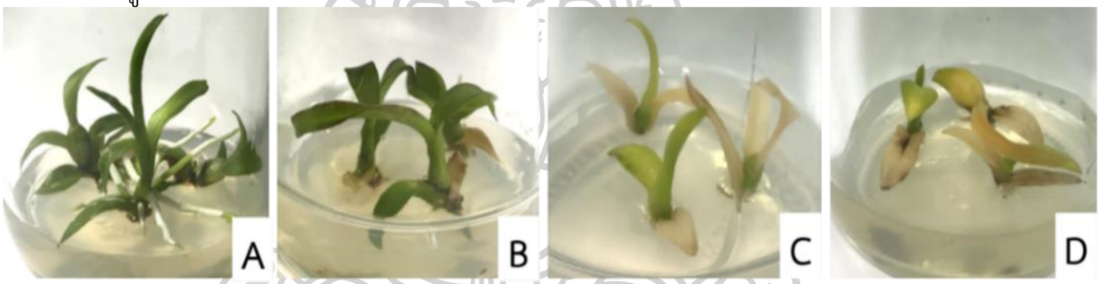
เปรียบเทียบผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (0 100 200 300 มิลลิโมลาร์) กับต้นกล้วยไม้สกุลหวายที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองเป็นเวลา 10 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่าอัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สูงที่สุดคือต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์สามารถเจริญเติบโตได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และลดลงเมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์คือ ที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีอัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้ 86.67 เปอร์เซ็นต์ และที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ พบอัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้ลดน้อยลงคือ ที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้เจริญได้เพียง 40 เปอร์เซ็นต์ และที่ 300 มิลลิโมลาร์ ของเกลือโซเดียมคลอไรด์พบว่าเป็นความเข้มข้นที่ทำให้ต้นกล้วยไม้เจริญได้น้อยที่สุดคือ พบการรอดชีวิตลดลงเหลือเพียง 6.67 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 3)



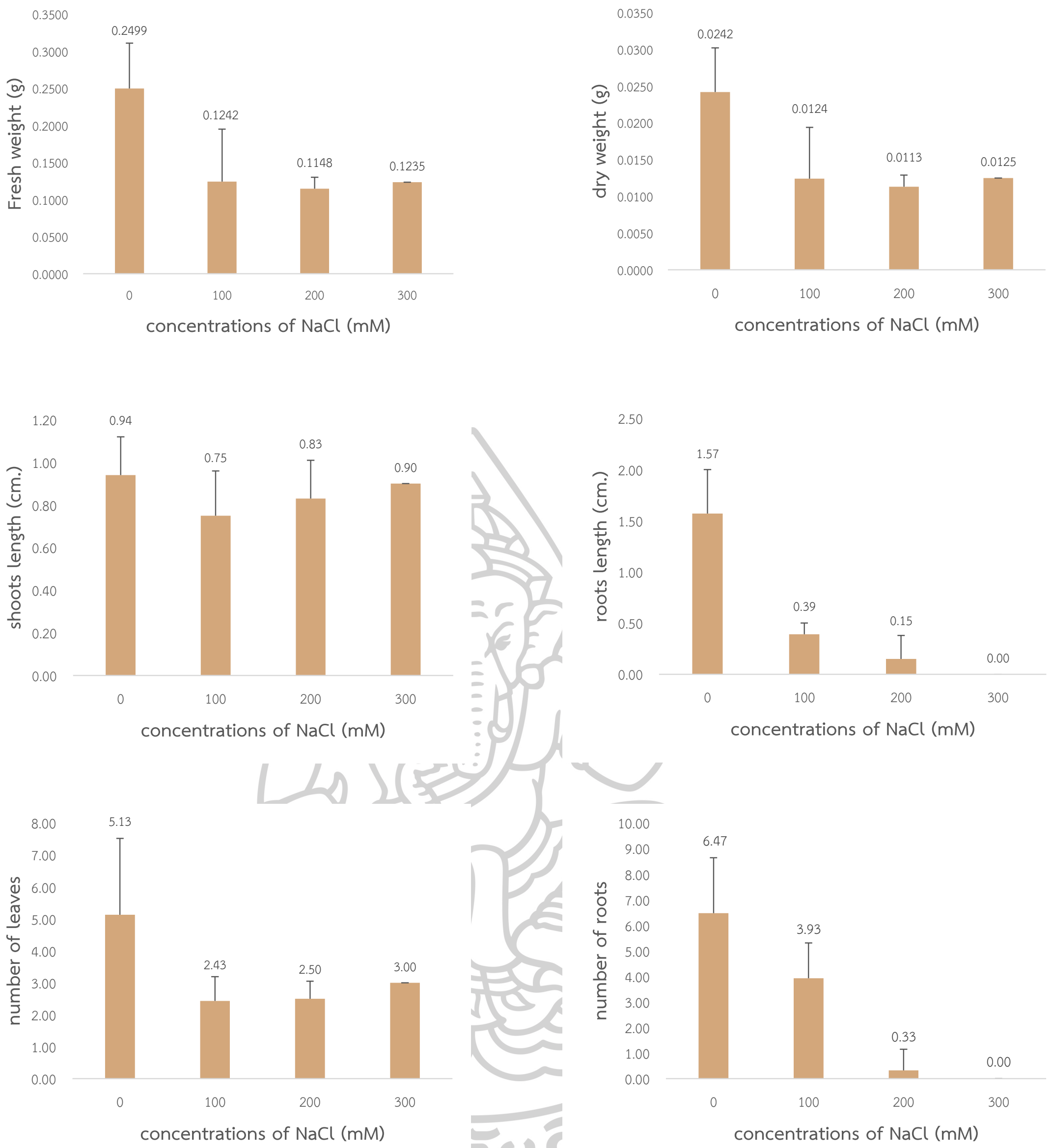
รูปที่ 3 อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับสภาวะเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์

การเจริญเติบโตซึ่งประกอบด้วยน้ำหนักสด-แห้ง ความสูงต้น ความยาวราก จำนวนใบ-ราก จากการทดลองพบว่าน้ำหนักสดของชุดควบคุมหรือเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0 มิลลิโมลาร์ ทำให้มี

น้ำหนักสดเฉลี่ย 0.2499 กรัม ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 100 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีน้ำหนักสดเฉลี่ย 0.1242 0.1148 และ 0.1235 กรัม ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0 100 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.0242 0.0124 0.0113 และ 0.0125 กรัม ตามลำดับ และมีความสูงต้นเฉลี่ยคือ 0.94 0.75 0.83 และ 0.90 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนจำนวนใบพบว่าที่ระดับความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ 0 100 200 และ 300 มิลลฺโมลาร์ ทำให้มีจำนวนใบเฉลี่ยเท่ากับ 5.13 2.43 2.50 และ 3.00 ใบ ตามลำดับ และการเจริญของราก (ความยาวราก-จำนวนราก) มีการลดลงอย่างเห็นได้ชัดเมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น100 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีความยาวรากเฉลี่ย 0.39 0.15 และ 0.00 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมมีความยาวรากมากที่สุดเท่ากับ 1.57 เซนติเมตร ส่วนจำนวนรากพบว่าชุดควบคุมซึ่งไม่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์มีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุดคือ 6.47 ราก และลดลงเมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 100 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ ซึ่งพบจำนวนรากเฉลี่ย 3.39 0.33 และ 0.00 ราก ตามลำดับ (รูปที่ 5)



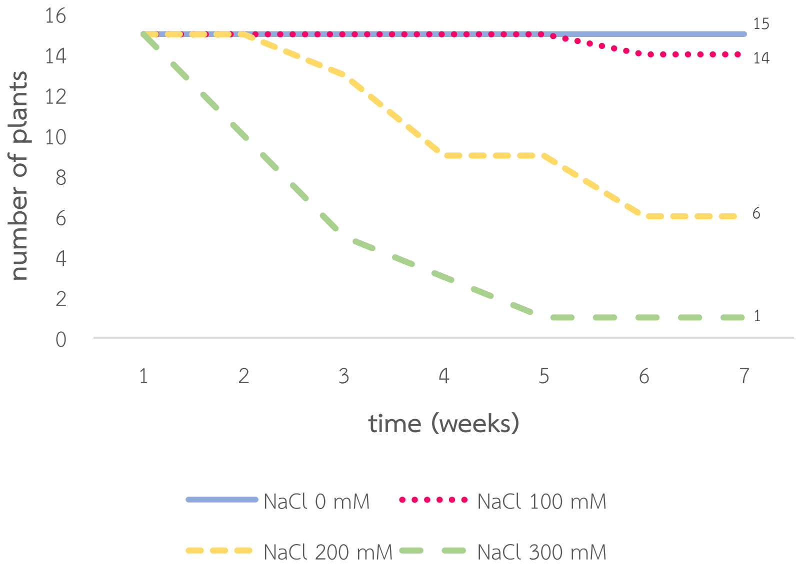
รูปที่4 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (A = 0 mM; B = 100 mM; C = 200 mM; D= 300 mM) โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์



รูปที่ 5 การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวาย เมื่อได้รับสภาวะความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เป็นเวลา 10 สัปดาห์; a, b และ c หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ α= 0.05

จำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตใน 7 สัปดาห์ พบว่าชุดควบคุมซึ่งไม่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ ต้นกล้วยไม้รอดชีวิตครบ 15 ต้น หรือไม่พบการตายของต้นกล้วยไม้เกิดขึ้น ในขณะที่ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ ใน 7 สัปดาห์ พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 มิลลิโมลาร์ พบต้นกล้วยไม้รอดชีวิต 14 ต้น จากต้นกล้วยไม้ทั้งหมด 15 ต้น และในต้นกล้วยไม้ที่ได้รับระดับความเข้มข้นเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ พบต้นกล้วยไม้รอดชีวิต 6 ต้น จากทั้งหมด 15 ต้น และระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300

มิลลิโมลาร์ ทำให้มีจำนวนของต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตน้อยที่สุดคือ 1 ต้น จากต้นกล้วยไม้ทั้งหมด 15 ต้น ใน 7 สัปดาห์ (รูปที่ 6)



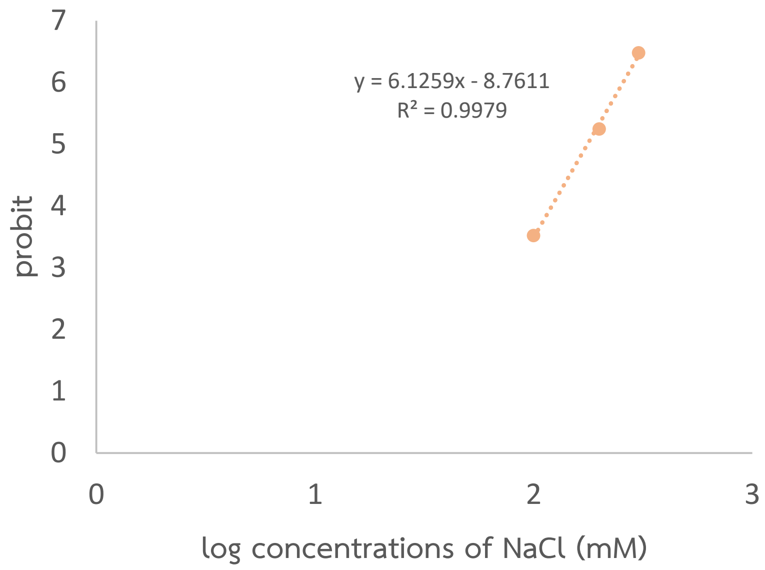
รูปที่ 6 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ ภายใต้สภาวะเครียดเนื่องจากความเค็ม โดยได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 0, 100, 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์

ตารางที่ 2 จำนวนต้นกล้วยไม้ที่ลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์และอัตราการตายของต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ ภายใต้สภาวะเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ NaCl (มิลลิโมลาร์)	**จำนวนต้นกล้วยไม้ที่ลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์ (ต้น)**	**อัตราการตายของต้นกล้วยไม้ (เปอร์เซ็นต์)**
ชุดควบคุม	0	0
100	0.18	6.67
200	1.75	60
300	2.29	93.34

จำนวนต้นกล้วยไม้ที่ลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์และอัตราการตายของต้นกล้วยไม้ใน 7 สัปดาห์ พบว่าชุดควบคุมไม่มีการลดลงและอัตราการตายส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 100 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ พบจำนวนต้นกล้วยไม้ที่ลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์คือ 0.18 0.75 และ 2.29

ต้น/สัปดาห์ ตามลำดับ โดยคิดเป็นอัตราการตายคือ 6.67 60 และ 93.34 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2)



รูปที่ 7 ความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างอัตราการตายของต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ 'Sonia Jo Daeng' แบบ Probit กับลอการิทึมของระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ (NaCl)

และการคำนวณหาค่าความเป็นพิษ Median Lethal Concentration (LC_{50}) ด้วยวิธีการวิเคราะห์ของ Finney (1952) ที่เรียกว่า Probit analysis พบว่าสมการเส้นตรงของอัตราการตายของต้นกล้วยไม้ที่ได้รับความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) (รูปที่ 7) เป็นดังนี้

โซเดียมคลอไรด์

$$y = 6.1259x - 8.7611 \quad R^2 = 0.9979 \text{ ---------------- } (1)$$

ที่ y = 5.00 ค่า LC_{50} มีค่าเท่ากับ 173.78 มิลลิโมลาร์

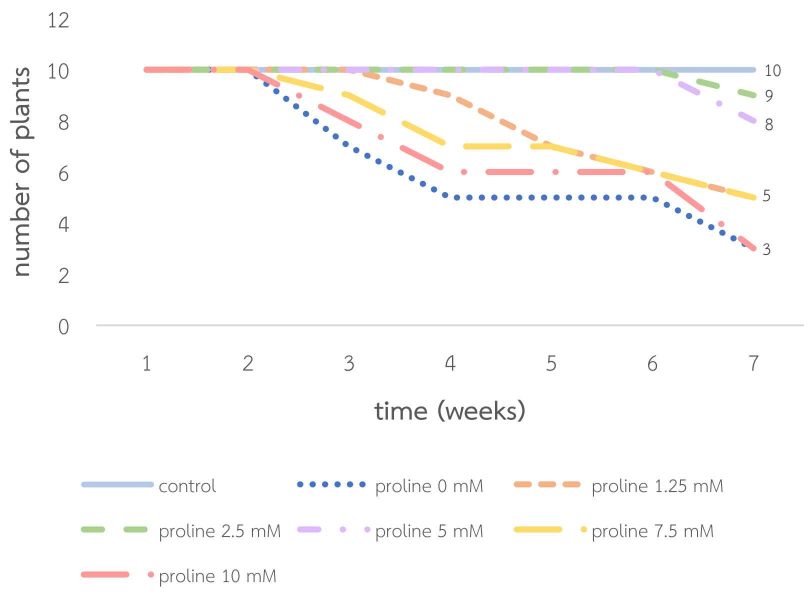
พบว่าจากค่า LC_{50} แสดงให้เห็นว่าต้นกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์ มีการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 173.78 มิลลิโมลาร์ ในหลอดทดลอง จากการทดลองระดับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ มีค่าใกล้เคียงกับระดับความเข้มข้นที่ทำให้ต้นกล้วยไม้ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ จึงนำความเข้มข้นของเกลือ 200 มิลลิโมลาร์ มาทดสอบผลของสารโพรลีน และ PBZ ในการชะลอ และช่วยลดผลกระทบจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ในการทดลองถัดไป

ในการศึกษาการทดสอบผลของสารโพรลีน และพาโคลบิวทราโซลเพื่อช่วยลดผลกระทบจากสภาวะความเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์จะแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ 1. การให้ต้นกล้วยไม้ได้รับสาร

พร้อมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ และ 2. ให้ต้นกล้วยไม้ได้รับสาร (โพรลีน/พาโคลบิวทราโซล) เป็นเวลา 7 วัน แล้วให้ได้รับสภาวะความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์

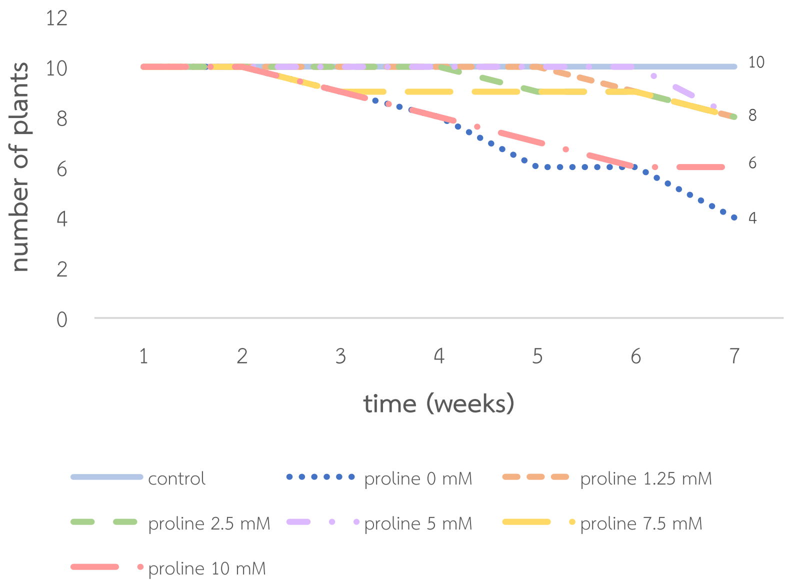
4.2 **ผลของโพรลีนต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายที่ได้รับสภาวะความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์เป็นเวลา** 10 **สัปดาห์**

เปรียบเทียบเมื่อให้ต้นกล้วยไม้ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับโพรลีนที่ความเข้มข้นต่างๆ (0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์) พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงต้นกล้วยไม้เป็นเวลา 7 สัปดาห์ ต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับผลกระทบจากเกลือโซเดียมคลอไรด์คือชุดควบคุมพบจำนวนต้นที่รอดชีวิตทั้งหมดคือ 10 ต้น ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับโพรลีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือโพรลีน 0 มิลลิโมลาร์ มีผลทำให้การรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้เหลือเพียง 3 ต้น จากต้นกล้วยไม้ทั้งหมด 10 ต้น ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 1.25 มิลลิโมลาร์ มีผลทำให้การรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้มี 5 ต้น จากทั้งหมด 10 ต้น ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 2.5 มิลลิโมลาร์ ส่งผลให้ต้นกล้วยไม้มีจำนวนต้นที่รอดชีวิต 8 ต้น จากต้นกล้วยไม้ทั้งหมด 10 ต้น ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 5 มิลลิโมลาร์ มีผลทำให้การรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้มี 8 ต้น จากทั้งหมด 10 ต้นส่วนที่ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 7.5 มิลลิโมลาร์ มีผลทำให้ต้นกล้วยไม้มีจำนวนต้นที่รอดชีวิตคงเหลือ 5 ต้น จาก 10 ต้น และที่ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 10 มิลลิโมลาร์ ทำให้เหลือจำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิต 3 ต้น จากทั้งหมด 10 ต้น (รูปที่ 8)



รูปที่ 8 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับโพรลีน (proline) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์

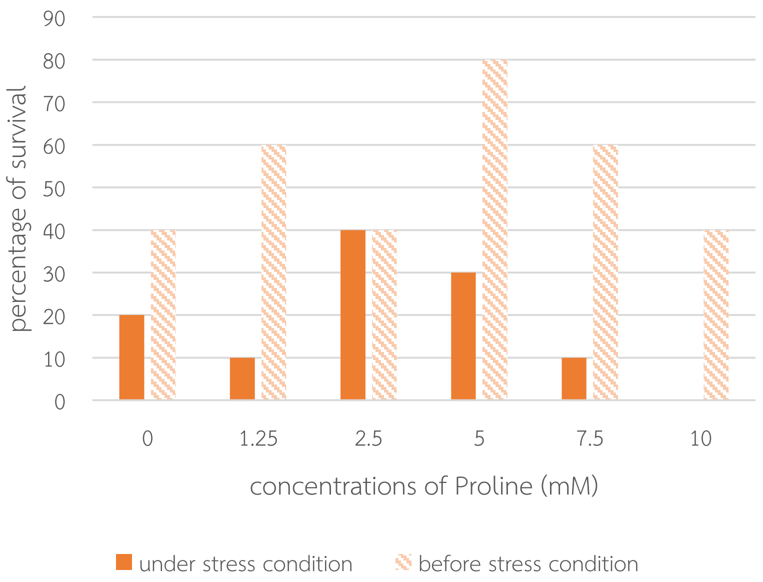
ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์) ก่อนเป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นย้ายลงบนอาหาร VW ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ ผลการทดลองที่ 7 สัปดาห์ พบว่าชุดควบคุมซึ่งเพาะเลี้ยงบนอาหาร VW พบจำนวนต้นที่รอดชีวิตครบทั้งหมด 10 ต้น ส่วนต้นที่ได้รับโพรลีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน แล้วนำย้ายลงอาหาร VW ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ ที่ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 มิลลิโมลาร์ พบว่าทำให้มีจำนวนต้นกล้วยไม้รอดชีวิตคงเหลือ 4 ต้น จาก 10 ต้น ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 1.25 2.5 5 และ 7.5 มิลลิโมลาร์ จำนวนต้นรอดชีวิตมี 8 ต้น จากทั้งหมด 10 ต้น และที่ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 10 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีจำนวนการรอดชีวิตเหลือ 6 ต้น จากต้นกล้วยไม้ทั้งหมด 10 ต้น (รูปที่ 9) จะเห็นได้ว่าที่ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 1.25 2.5 5 และ 7.5 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีจำนวนต้นที่รอดชีวิตเท่ากันคือ 8 ต้น แต่เมื่อพิจารณาการเริ่มตาย หรือการลดจำนวนลงของต้นกล้วยไม้ที่ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 5 มิลลิโมลาร์ เกิดได้ช้ากว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับที่ได้รับโพรลีนในระดับความเข้มข้นอื่นๆ



รูปที่ 9 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ 'Sonia Jo Daeng' เมื่อได้รับโพรลีน (proline) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์

อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ 'Sonia Jo Daeng' เมื่อได้รับโพรลีนภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าเมื่อให้ต้นกล้วยไม้ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับโพรลีนที่ระดับความเข้มข้น 0 มิลลิโมลาร์ ทำให้พบอัตราการรอดชีวิต 20 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีนที่ระดับความเข้มข้น 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีอัตราการรอดชีวิต 10

40 30 10 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารโดยการให้โพรลีนก่อนแก่ต้นกล้วยไม้เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร VW ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับสารโพรลีนก่อน (โพรลีน 0 มิลลิโมลาร์) ทำให้มีอัตราการรอดชีวิต 40 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีอัตราการรอดชีวิตคือ 60 40 80 60 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (รูปที่ 10)



รูปที่ 10 อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับโพรลีน (proline) ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์

มหาวิทยาลัยศิลปากร

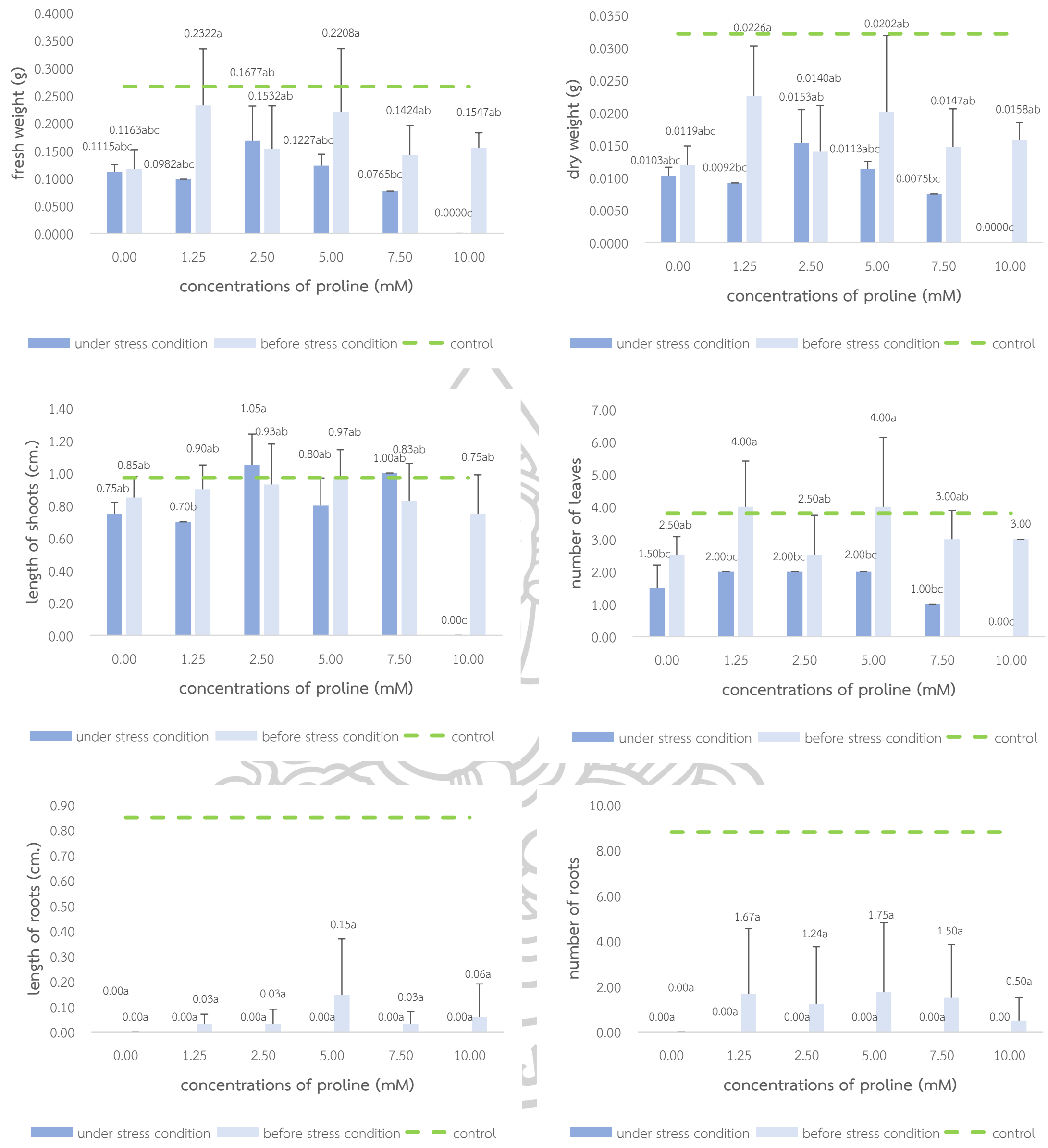
ตารางที่ 3 อัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์ของต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ ต่อสัปดาห์เมื่อได้รับโพรลีน (proline) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 200 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ proline (มิลลิโมลาร์)	อัตราการลดลงเฉลี่ยของต้นกล้วยไม้ต่อสัปดาห์ (ต้น)		อัตราการตายของต้นกล้วยไม้ (เปอร์เซ็นต์)	
	ใส่สารพร้อมเกลือ	ใส่สารก่อนเกลือ	ใส่สารพร้อมเกลือ	ใส่สารก่อนเกลือ
ชุดควบคุม	0		0	
0	1.18	1.04	70	60
1.25	0.93	0.29	50	20
2.5	0.11	0.32	10	20
5	0.21	0.21	20	20
7.5	0.89	0.29	50	20
10	1.11	0.79	70	40

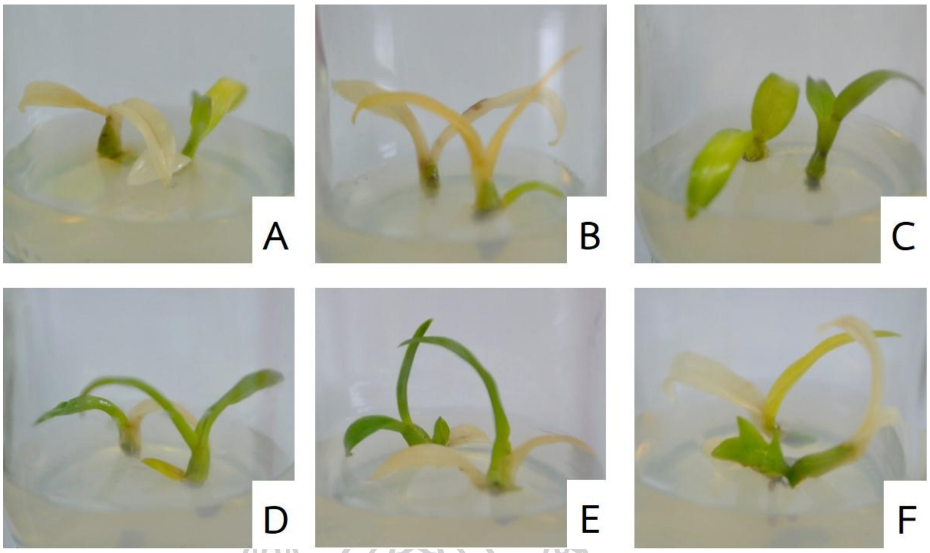
จากตารางอัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์และอัตราการตายของต้นกล้วยไม้สกุลหวายเมื่อพิจารณาที่ 7 สัปดาห์ พบว่าชุดควบคุม หรือต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ไม่พบอัตราการลดลง หรืออัตราการตาย ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับโพรลีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ พบอัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์คือ 1.18 0.93 0.11 0.21 0.89 และ 1.11 ต้น/สัปดาห์ ตามลำดับ โดยคิดเป็นอัตราการตายได้ 70 50 10 20 50 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีนเป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือพบว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ไม่พบอัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์และอัตราการตาย ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีนเป็นเวลา 7 วัน แล้วย้ายลงบนอาหารที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์คือ 1.04 0.29 0.32 0.21 0.29 และ 0.79 ต้น/สัปดาห์ ตามลำดับ คิดเป็นอัตราการตายได้ 60 20 20 20 20 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

การเจริญเติบโตซึ่งประกอบด้วยน้ำหนักสดพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีน้ำหนักสดเฉลี่ย 0.1115 0.0982 0.1677 0.1227 0.0765 และ 0.00 กรัม ส่วนวิธีการให้สารกับต้นกล้วยไม้ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือในระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีน้ำหนักสดเฉลี่ย 0.1163 0.2322 0.1532 0.2208 0.1424 และ 0.1547 กรัม

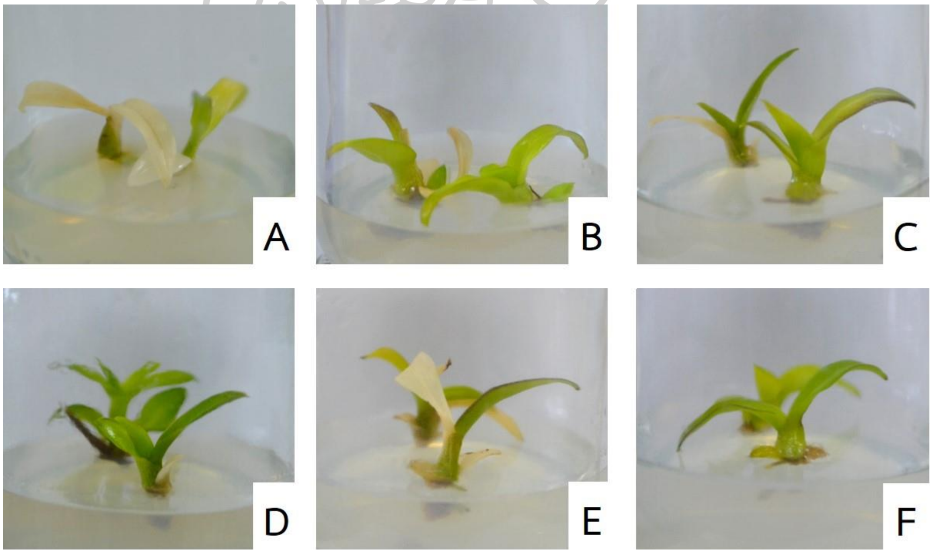
ตามลำดับ น้ำหนักแห้งพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ย0.0103 0.0092 0.0153 0.0113 0.0075 และ 0.00 กรัม ส่วนวิธีการให้สารกับต้นกล้วยไม้ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือในระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.0119 0.0226 0.0140 0.0202 0.0147 และ 0.0158 กรัม ตามลำดับ ความสูงต้นพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีความสูงต้นเฉลี่ย 0.75 0.70 1.05 0.80 1.00 และ 0.00 เซนติเมตร ส่วนวิธีการให้สารกับต้นกล้วยไม้ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือในระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีความสูงต้นเฉลี่ย 0.85 0.90 0.95 0.97 0.83 และ 0.75 เซนติเมตร ตามลำดับ ความยาวรากพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีความยาวรากเฉลี่ย 0.00 เซนติเมตร ในทุกระดับความเข้มข้น ส่วนวิธีการให้สารกับต้นกล้วยไม้ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือในระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีความยาวรากเฉลี่ย 0.00 0.03 0.03 0.15 0.03 และ 0.06 เซนติเมตร ตามลำดับ จำนวนใบพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีจำนวนใบเฉลี่ย 1.50 2.00 2.00 2.00 1.00 และ 0.00 ใบ ส่วนวิธีการให้สารกับต้นกล้วยไม้ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือในระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีจำนวนใบเฉลี่ย 2.50 4.00 2.50 4.00 3.00 และ 3.00 ใบ ตามลำดับ จำนวนรากพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีจำนวนรากเฉลี่ย 0.00 ราก ในทุกระดับความเข้มข้น ส่วนวิธีการให้สารกับต้นกล้วยไม้ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือในระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีจำนวนรากเฉลี่ย 0.00 1.67 1.24 1.75 1.50 และ 0.50 ราก ตามลำดับ (รูปที่ 11)



รูปที่ 11 การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายเมื่อได้รับโพรลีน (proline) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะความเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เป็นเวลา 10 สัปดาห์; a, b และ c หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ α= 0.05



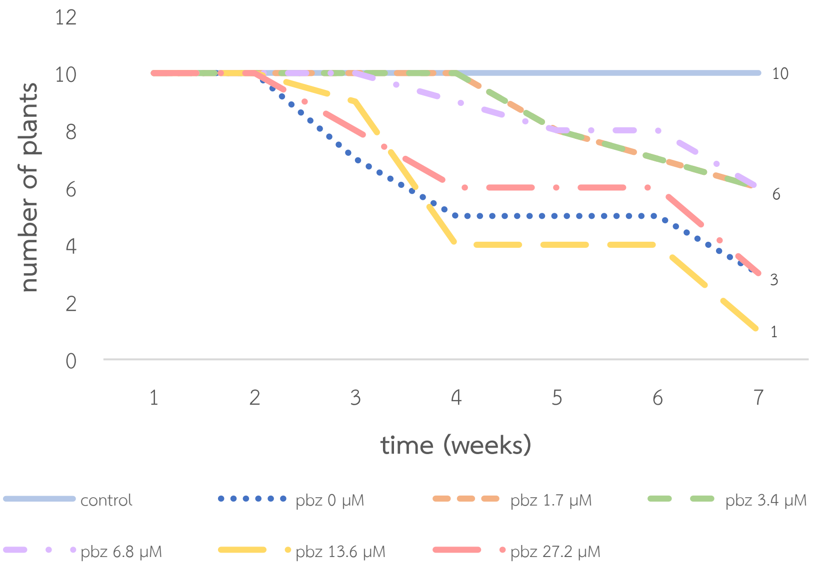
รูปที่ 12 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับโพรลีน (proline) (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) ร่วมกับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์



รูปที่ 13 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับโพรลีน (proline) (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์

4.3 ผลของพาโคลบิวทราโซล (PBZ) ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายที่ได้รับสภาวะความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์

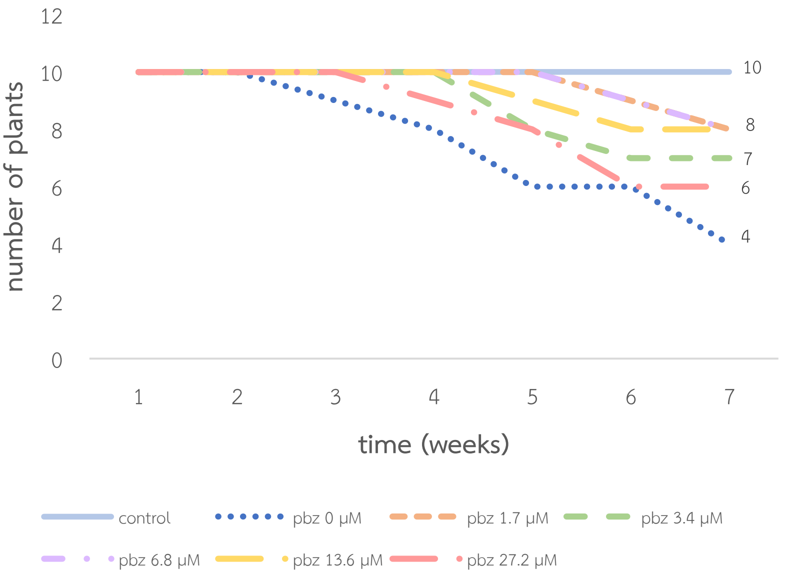
เปรียบเทียบเมื่อให้ต้นกล้วยไม้ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับ PBZ ที่ความเข้มข้นต่างๆ (0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์) พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงต้นกล้วยไม้เป็นเวลา 7 สัปดาห์ ต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับผลกระทบจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ หรือชุดควบคุมมีจำนวนต้นที่รอดชีวิตทั้งหมดคือ 10 ต้น ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับ PBZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ PBZ 0 ไมโครโมลาร์ ทำให้การรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้มีเพียง 3 ต้น จากต้นกล้วยไม้ทั้งหมด 10 ต้น ระดับความเข้มข้นของ PBZ 1.7 3.4 และ 6.8 ไมโครโมลาร์ มีผลทำให้การรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้มีเท่ากันคือ 6 ต้น จากทั้งหมด 10 ต้น ระดับความเข้มข้นของ PBZ 13.6 ไมโครโมลาร์ ส่งผลให้ต้นกล้วยไม้มีจำนวนต้นที่รอดชีวิตเพียง 1 ต้น จากต้นกล้วยไม้ทั้งหมด 10 ต้น และที่ระดับความเข้มข้นของ PBZ 27.2 ไมโครโมลาร์ ทำให้เหลือจำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตคงเหลือ 3 ต้น จากทั้งหมด 10 ต้น (รูปที่ 14)



รูปที่ 14 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซล (PBZ) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์

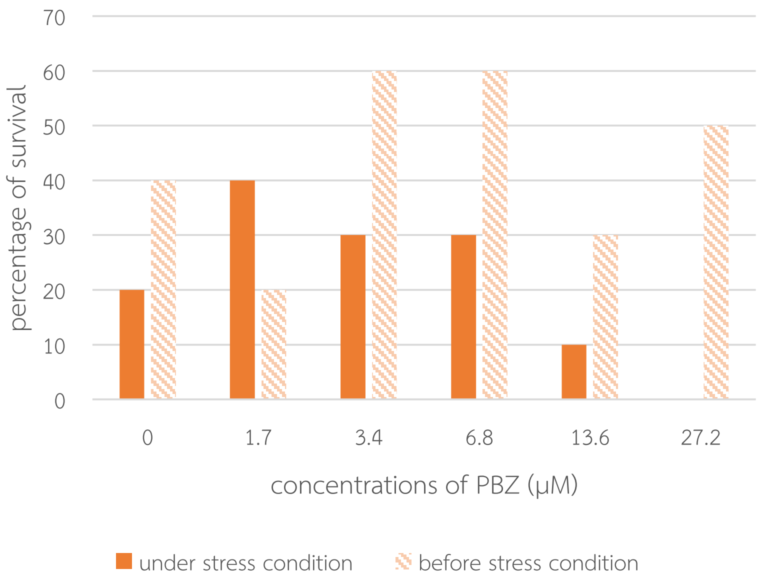
ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์) ก่อนเป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นย้ายลงบนอาหาร VW ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ พบว่าชุดควบคุมซึ่งเพาะเลี้ยงบนอาหาร VW พบจำนวนต้นที่รอดชีวิตครบทั้งหมด 10 ต้น ส่วนต้นที่ได้รับ PBZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน แล้วนำย้ายลงอาหาร VW ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ ที่ระดับความเข้มข้นของ PBZ 0 ไมโครโมลาร์ พบว่าทำให้มีจำนวนต้นกล้วยไม้รอดชีวิตคงเหลือ 4 ต้น จาก 10 ต้น ระดับความเข้มข้นของ PBZ 1.7 6.8 และ

13.6 ไมโครโมลาร์ จำนวนต้นรอดชีวิตมี 8 ต้น จากทั้งหมด 10 ต้น ที่ระดับความเข้มข้นของ PBZ 3.4 ไมโครโมลาร์ ทำให้มีจำนวนการรอดชีวิตเหลือ 7 ต้น จากทั้งหมด 10 ต้น และที่ระดับความเข้มข้นของ PBZ 27.2 ไมโครโมลาร์ ทำให้มีจำนวนการรอดชีวิตเหลือ 6 ต้น จากต้นกล้วยไม้ทั้งหมด 10 ต้น (รูปที่ 15)



รูปที่ 15 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซล (PBZ) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 สัปดาห์

อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซล (PBZ) ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าเมื่อให้ต้นกล้วยไม้ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับ PBZ ที่ระดับความเข้มข้น 0 มิลลิโมลาร์ ทำให้พบอัตราการรอดชีวิต 20 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ ที่ระดับความเข้มข้น 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ทำให้มีอัตราการรอดชีวิต 40 30 30 10 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารโดยการให้ PBZ ก่อนแก่ต้นกล้วยไม้เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร VW ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับสาร PBZ ก่อน (PBZ 0 ไมโครโมลาร์) ทำให้มีอัตราการรอดชีวิต 40 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ทำให้มีอัตราการรอดชีวิตคือ 20 60 60 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (รูปที่ 16)



รูปที่ 16 อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ 'Sonia Jo Daeng' เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซล (PBZ) ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์

ตารางที่ 4 อัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์ของต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ 'Sonia Jo Daeng' เมื่อได้รับพาโคบิวทราโซล (PBZ) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 200 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม

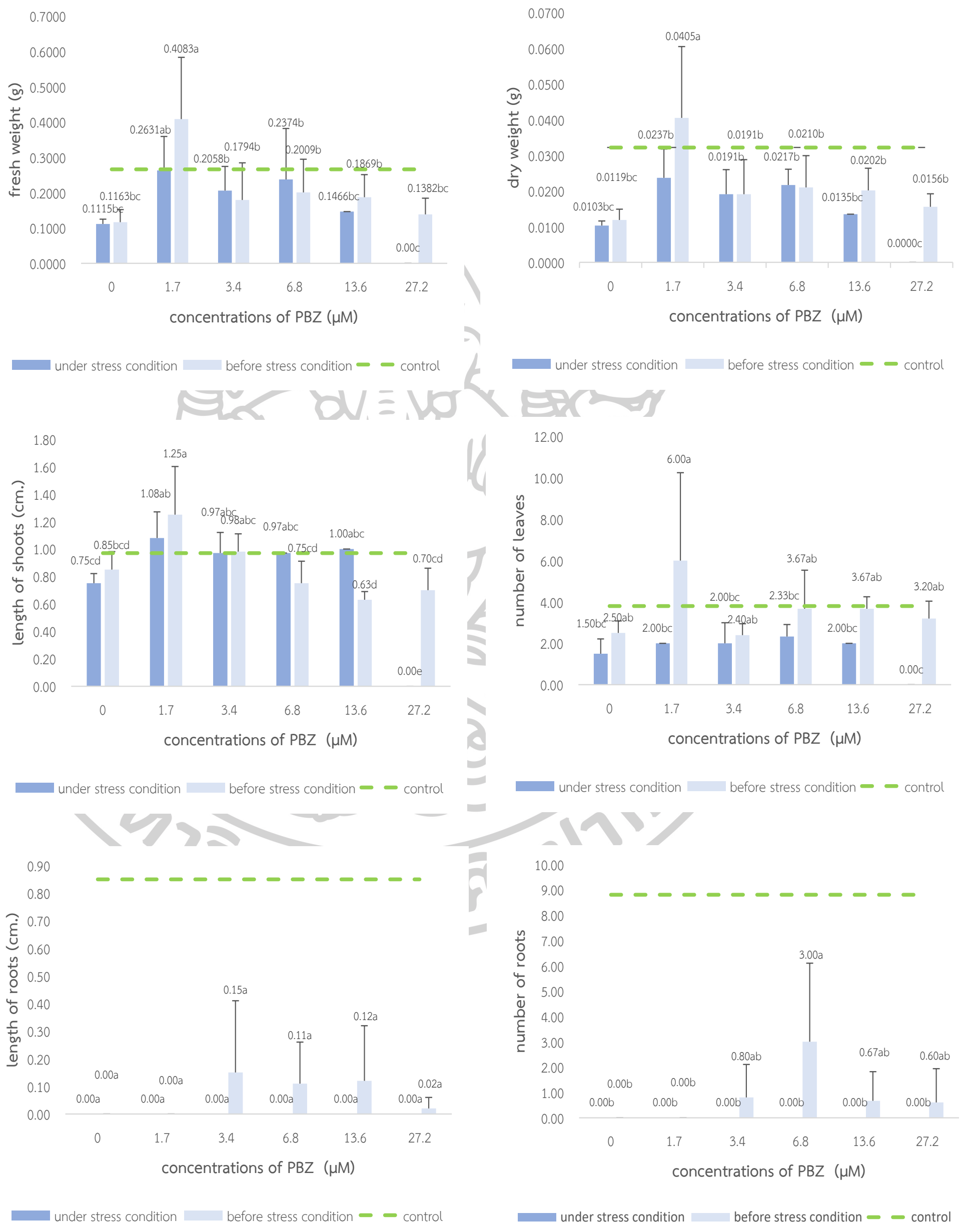
ความเข้มข้นของ PBZ (ไมโครโมลาร์)	อัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์ของต้นกล้วยไม้ (ต้น)		อัตราการตายของต้นกล้วยไม้ (เปอร์เซ็นต์)	
	ใส่สารพร้อมเกลือ	ใส่สารก่อนเกลือ	ใส่สารพร้อมเกลือ	ใส่สารก่อนเกลือ
ชุดควบคุม	0		0	
0	1.18	1.04	70	60
1.7	0.71	0.29	40	20
3.4	0.71	0.61	40	30
6.8	0.64	0.29	40	20
13.6	1.57	0.39	90	20
27.2	1.11	0.79	70	40

จากตารางอัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์และอัตราการตายของต้นกล้วยไม้สกุลหวายเมื่อพิจารณาที่ 7 สัปดาห์ พบว่าชุดควบคุม หรือต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ไม่พบอัตราการลดลงหรืออัตราการตาย ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับ

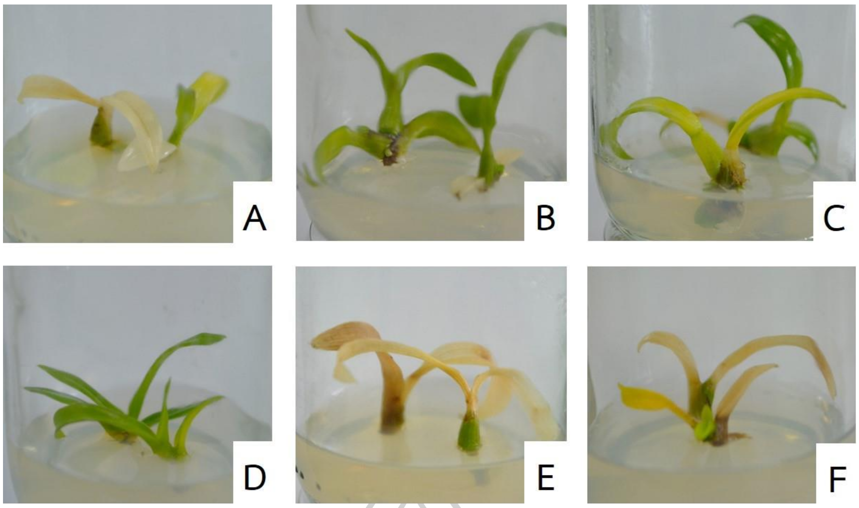
PBZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ พบอัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์คือ 1.18 0.71 0.71 0.64 1.57 และ 1.11 ต้นต่อสัปดาห์ ตามลำดับ โดยคิดเป็นอัตราการตายได้ 70 40 40 40 90 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือพบว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ไม่พบอัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์และอัตราการตาย ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ เป็นเวลา 7 วัน แล้วย้ายลงบนอาหารที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของ PBZ 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ มีอัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์คือ 1.04 0.29 0.61 0.29 0.39 และ 0.79 ต้นต่อสัปดาห์ ตามลำดับ โดยคิดเป็นอัตราการตายได้ 60 20 30 20 20 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

การเจริญเติบโตซึ่งประกอบด้วยน้ำหนักสดพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของ PBZ 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีน้ำหนักสดเฉลี่ย 0.1115 0.2631 0.2058 0.2374 0.1466 และ 0.00 กรัม ส่วนวิธีการให้สารกับต้นกล้วยไม้ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือในระดับความเข้มข้นของ PBZ 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีน้ำหนักสดเฉลี่ย 0.1163 0.4803 0.2058 0.2009 0.1869 และ 0.1382 กรัม ตามลำดับ น้ำหนักแห้งพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของ PBZ 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.0103 0.0237 0.0191 0.0217 0.0135 และ 0.00 กรัม ส่วนวิธีการให้สารกับต้นกล้วยไม้ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือในระดับความเข้มข้นของ PBZ 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.0119 0.0405 0.0191 0.0210 0.0202 และ 0.0156 กรัม ตามลำดับ ความสูงต้นพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของ pbz 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีความสูงต้นเฉลี่ย 0.75 1.08 0.97 0.97 1.00 และ 0.70 เซนติเมตร ส่วนวิธีการให้สารกับต้นกล้วยไม้ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือในระดับความเข้มข้นของ PBZ 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีความสูงต้นเฉลี่ย 0.85 1.25 0.98 0.75 0.63 และ 0.70 เซนติเมตร ตามลำดับ ความยาวรากพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของ PBZ 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีความยาวรากเฉลี่ย 0.00 เซนติเมตร ในทุกระดับความเข้มข้น ส่วนวิธีการให้สารกับต้นกล้วยไม้ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือในระดับความเข้มข้นของ PBZ 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีความยาวรากเฉลี่ย 0.00 0.00 0.15 0.11 0.12 และ 0.02 เซนติเมตร ตามลำดับ จำนวนใบพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของ PBZ 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีจำนวนใบเฉลี่ย 1.50 2.00 2.00 2.33 2.00 และ 0.00 ใบ ส่วนวิธีการให้สารกับต้นกล้วยไม้ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือในระดับความเข้มข้นของ PBZ 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีจำนวนใบเฉลี่ย 2.50 6.00 2.4 3.67 3.67 และ 3.20 ใบ ตามลำดับ จำนวนรากพบว่าที่ระดับความเข้มข้น

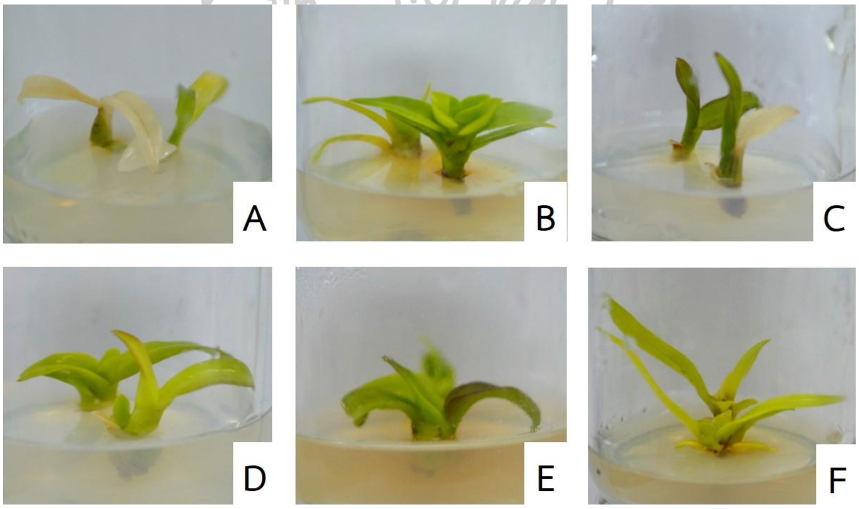
ของ PBZ 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 200 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีจำนวนรากเฉลี่ย 0.00 ราก ในทุกระดับความเข้มข้น ส่วนวิธีการให้สารกับต้นกล้วยไม้ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือในระดับความเข้มข้นของ PBZ 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีจำนวนรากเฉลี่ย 0.00 0.00 0.80 3.00 0.67 และ 0.60 ราก ตามลำดับ (รูปที่ 17)



รูปที่ 17 การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายเมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซล (PBZ) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะความเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) เปรียบเทียบกับชุดควบคุมเป็นเวลา 10 สัปดาห์; a, b และ c หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $\alpha = 0.05$



รูปที่ 18 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซล (PBZ) (A = 0 µM; B = 1.7 µM; C = 3.4 µM; D = 6.8 µM; E = 13.6 µM; F = 27.2 µM) ร่วมกับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์



รูปที่ 19 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซล (PBZ) (A = 0 µM; B = 1.7 µM; C = 3.4 µM; D = 6.8 µM; E = 13.6 µM; F = 27.2 µM) เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์

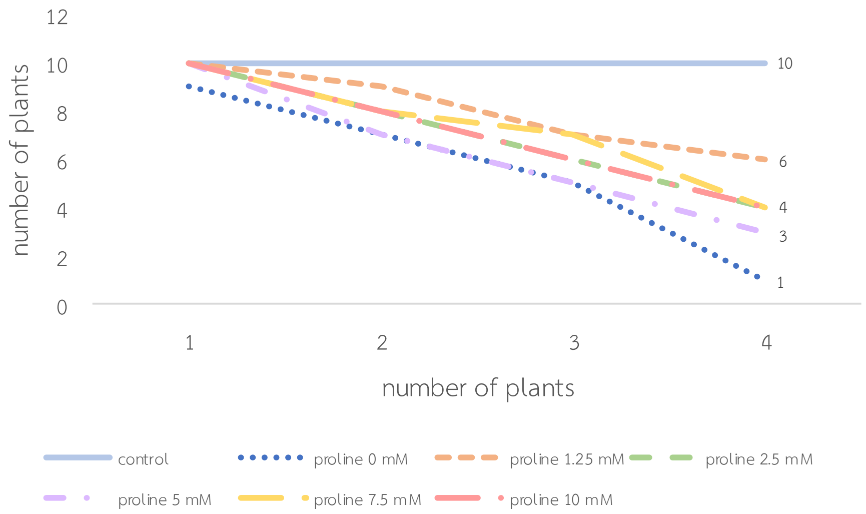
และจากผลการทดลองทั้ง 2 การทดลอง (4.2 และ 4.3) เมื่อนำความเข้มข้นที่ดีที่สุดของแต่ละสารรวมถึงวิธีการให้สารแก่ต้นกล้วยไม้พบว่า เมื่อเปรียบเทียบผลการให้โพรลีนแก่ต้นกล้วยไม้พร้อมกับการได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ ระดับความเข้มข้นของโพรลีนที่เหมาะสมที่สุดคือ 2.5 มิลลิโมลาร์ ส่วนการให้โพรลีนแก่ต้นกล้วยไม้ก่อนเป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้น

ย้ายลงบนอาหารที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ ความเข้มข้นของโพรลีนที่เหมาะสมที่สุดคือ 5 มิลลิโมลาร์ นำทั้งสองความเข้มข้นมาเปรียบเทียบกันพบว่าการให้โพรลีนแก่ต้นกล้วยไม้ที่ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายลงบนอาหารที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ ให้ประสิทธิภาพอัตราการรอดชีวิตดีกว่า โดยมีอัตราการรอดชีวิตสูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การให้โพรลีนแก่ต้นกล้วยไม้ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมลาร์ พร้อมกับการได้รับความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการรอดชีวิตเพียง 40 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 10) และยังพบการเจริญของรากทั้งจำนวนและความยาวรากมากกว่าการให้โพรลีนแก่ต้นกล้วยไม้พร้อมกับการได้รับความเครียดเกลือ (รูปที่ 11)

ส่วนการได้รับ PBZ จากทั้ง 2 การทดลองพบว่าการให้ PBZ แก่ต้นกล้วยไม้ที่ระดับความเข้มข้น 1.7 ไมโครโมลาร์ พร้อมเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ และการให้ PBZ แก่ต้นกล้วยไม้ที่ระดับความเข้มข้น 6.8 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายลงบนอาหารที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด ดังนั้นจึงนำทั้งสองความเข้มข้นนี้มาเปรียบเทียบกันพบว่า ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ ที่ระดับความเข้มข้น 6.8 ไมโครโมลาร์ ก่อนได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ ให้ประสิทธิภาพดีกว่า เนื่องจากเมื่อเพาะเลี้ยงครบ 10 สัปดาห์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีอัตราการรอดชีวิตสูงถึง 60 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ ที่ระดับความเข้มข้น 1.7 ไมโครโมลาร์ พร้อมเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการรอดชีวิตเพียง 40 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 16) และเมื่อพิจารณาจำนวนต้นที่รอดชีวิตเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์ PBZ ที่ระดับความเข้มข้น 6.8 ไมโครโมลาร์ ส่งผลให้ต้นกล้วยไม้มีจำนวนต้นที่รอดชีวิต 8 ต้น จาก 10 ต้น (รูปที่ 15) ในขณะที่ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ ที่ระดับความเข้มข้น 1.7 ไมโครโมลาร์ มีจำนวนการรอดชีวิตน้อยกว่าคือ 6 ต้น จาก 10 ต้น (รูปที่ 14)

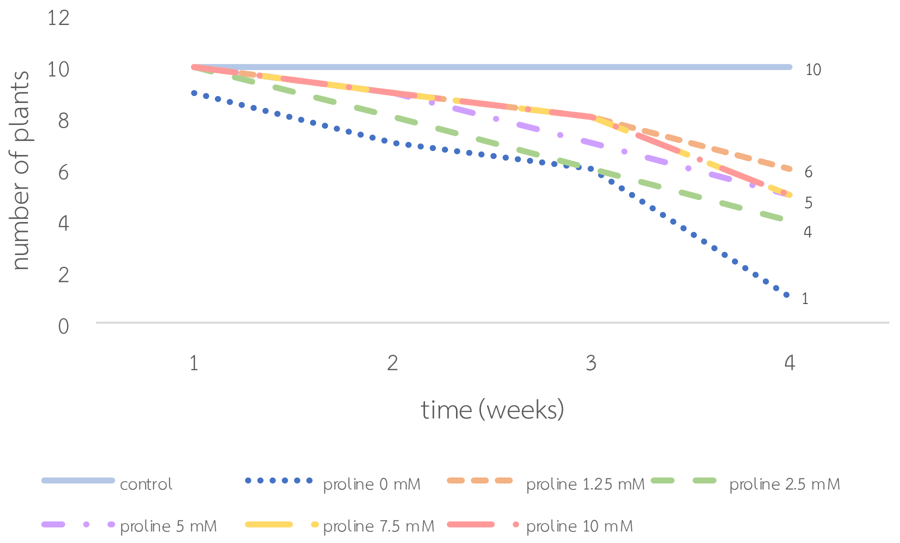
4.4 **ผลของโพรลีนต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายที่ได้รับสภาวะความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์**

เปรียบเทียบเมื่อให้ต้นกล้วยไม้ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับโพรลีนที่ความเข้มข้นต่างๆ (0 1.25 2.5 5 7.5 และ10 มิลลิโมลาร์) พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงต้นกล้วยไม้เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับผลกระทบจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ หรือชุดควบคุม ทำให้พบจำนวนต้นที่รอดชีวิตทั้งหมดคือ 10 ต้น ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับโพรลีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือโพรลีน 0 มิลลิโมลาร์ มีผลทำให้การรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้เหลือเพียง 1 ต้น จากต้นกล้วยไม้ทั้งหมด 10 ต้น ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 1.25 มิลลิโมลาร์ มีผลทำให้การรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้มี 6 ต้น จากทั้งหมด 10 ต้น ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 2.5 มิลลิโมลาร์ ส่งผลให้ต้นกล้วยไม้มีจำนวนต้นที่รอดชีวิต 4 ต้น จากต้นกล้วยไม้ทั้งหมด 10 ต้น ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 5 มิลลิโมลาร์ มีผลทำให้การรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้มี 3 ต้น จากทั้งหมด 10 ต้น ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ มีผลทำให้ต้นกล้วยไม้มีจำนวนต้นที่รอดชีวิตคงเหลือ 4 ต้น จาก 10 ต้น (รูปที่ 20)



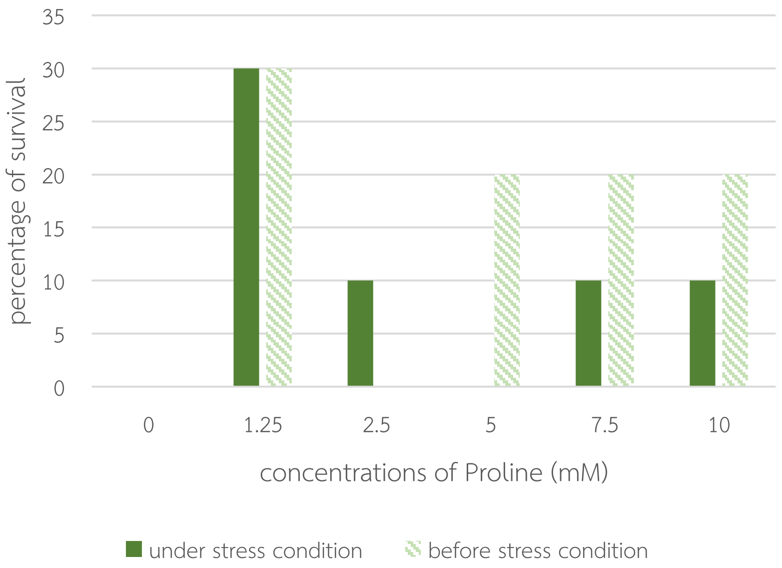
รูปที่ 20 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับโพรลีน (Proline) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์) ก่อนเป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นย้ายลงบนอาหาร VW ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ ผลการทดลองที่ 4 สัปดาห์ พบว่าชุดควบคุมซึ่งเพาะเลี้ยงบนอาหาร VW พบจำนวนต้นที่รอดชีวิตครบทั้งหมด 10 ต้น ส่วนต้นที่ได้รับโพรลีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน แล้วนำย้ายลงอาหาร VW ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ ที่ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 มิลลิโมลาร์ พบว่าทำให้มีจำนวนต้นกล้วยไม้รอดชีวิตคงเหลือ 1 ต้น จาก 10 ต้น ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 1.25 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีจำนวนต้นรอดชีวิตมี 6 ต้น จากทั้งหมด 10 ต้น ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 2.5 พบจำนวนต้นรอดชีวิต 6 ต้น จากทั้งหมด 10 ต้น และที่ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ พบจำนวนต้นรอดชีวิตเหลือ 5 ต้น จากทั้งหมด 10 ต้น (รูปที่ 21)



รูปที่ 21 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ 'Sonia Jo Daeng' เมื่อได้รับโพรลีน (proline) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ 'Sonia Jo Daeng' เมื่อได้รับโพรลีนภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าเมื่อให้ต้นกล้วยไม้ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับโพรลีนที่ระดับความเข้มข้น 0 มิลลิโมลาร์ ทำให้ไม่พบอัตราการรอดชีวิต ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีนที่ระดับความเข้มข้น 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีอัตราการรอดชีวิต 30 10 0 10 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารโพรลีนก่อนเป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร VW ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับสารโพรลีนก่อน (โพรลีน 0 มิลลิโมลาร์) ทำให้ไม่พบอัตราการรอดชีวิต ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ 1.25 และ 2.5 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีอัตราการรอดชีวิตคือ 30 และ 0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนต้นที่ได้รับโพรลีนที่ระดับความเข้มข้น 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการรอดชีวิตเท่ากันคือ 20 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 22)



รูปที่ 22 อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ 'Sonia Jo Daeng' เมื่อได้รับโพรลีน (proline) ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์

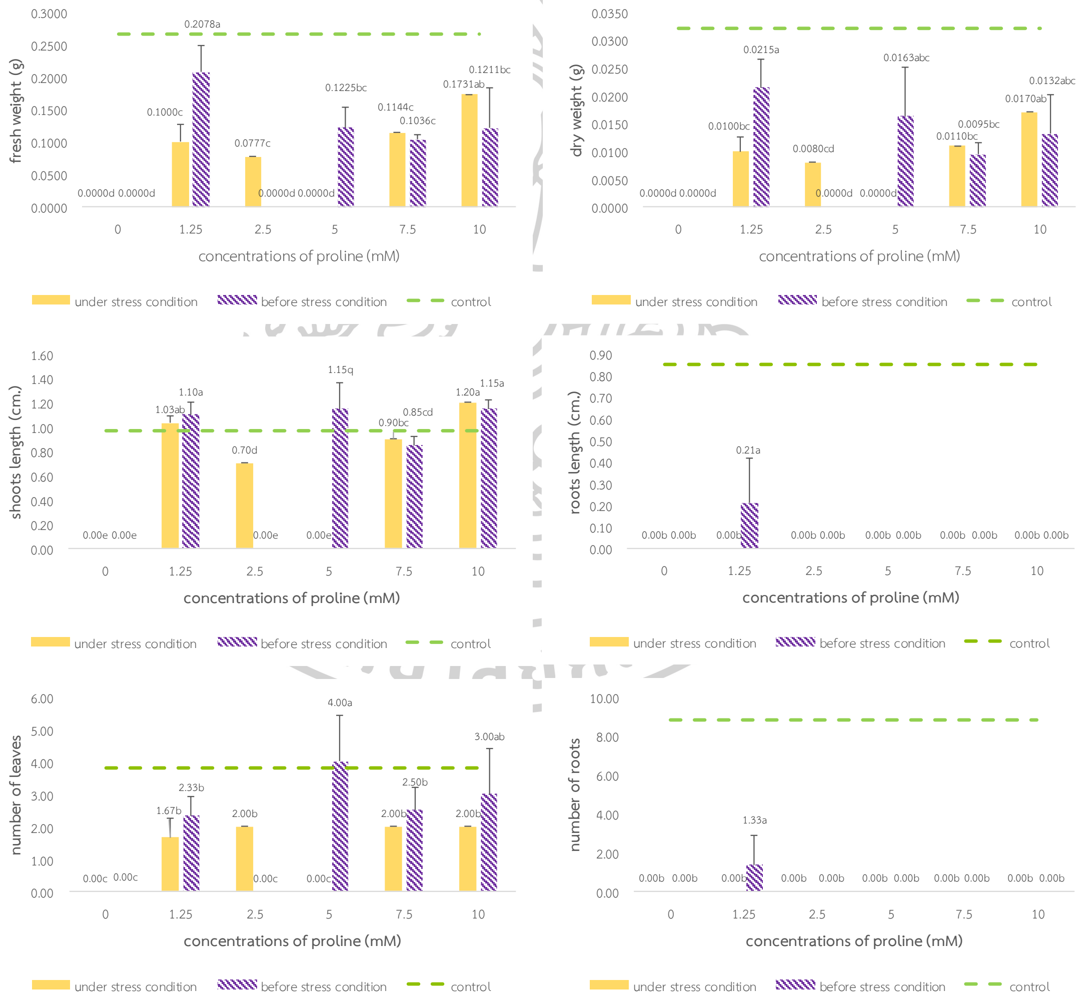
ตารางที่ 5 อัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์และอัตราการตายของต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ 'Sonia Jo Daeng' เมื่อได้รับโพรลีน (proline) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 300 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ proline (มิลลิโมลาร์)	อัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์ของต้นกล้วยไม้ (ต้น)		อัตราการตายของต้นกล้วยไม้ (เปอร์เซ็นต์)	
	ใส่สารพร้อมเกลือ	ใส่สารก่อนเกลือ	ใส่สารพร้อมเกลือ	ใส่สารก่อนเกลือ
ชุดควบคุม	0		0	
0	2.60	2.50	90	90
1.25	1.40	1.30	40	40
2.5	2.00	2.00	60	60
5	2.30	1.70	70	50
7.5	1.90	1.60	60	50
10	2.00	1.60	60	50

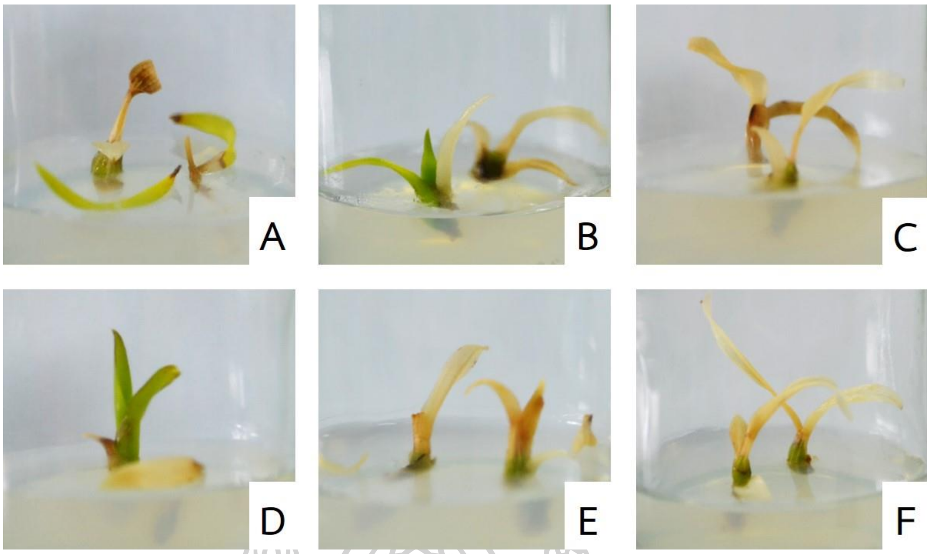
จากตารางอัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์และอัตราการตายของต้นกล้วยไม้สกุลหวายเมื่อพิจารณาที่ 4 สัปดาห์ พบว่าชุดควบคุม หรือต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ไม่พบอัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์หรืออัตราการตาย ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับโพรลีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ พบอัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์คือ 2.60 1.40 2.00 2.30 1.90 และ 2.00 ต้นต่อสัปดาห์ ตามลำดับ โดยคิดเป็นอัตราการตายได้ 90 40 60 70 60 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีนเป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือพบว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ไม่พบอัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์และอัตราการตาย ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีนเป็นเวลา 7 วัน แล้วย้ายลงบนอาหารที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ มีอัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์คือ 2.50 1.30 2.00 1.70 1.60 และ 1.60 ต้นต่อสัปดาห์ ตามลำดับ โดยคิดเป็นอัตราการตายได้ 90 40 60 50 50 และ 50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5)

การเจริญเติบโตซึ่งประกอบด้วยน้ำหนักสดพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีน้ำหนักสดเฉลี่ย 0.00 0.1000 0.0777 0.00 0.1144 และ 0.1731 กรัม ส่วนวิธีการให้สารกับต้นกล้วยไม้ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือในระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีน้ำหนักสดเฉลี่ย 0.00 0.207 0.00 0.1225 0.0360 และ 0.1211 กรัม ตามลำดับ น้ำหนักแห้งพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.00 0.0100 0.0080 0.00 0.0110 และ 0.0170 กรัม ส่วนวิธีการให้สารกับต้นกล้วยไม้ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือในระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.00 0.0215 0.00 0.0163 0.0095 และ 0.0132 กรัม ตามลำดับ ความสูงต้นพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีความสูงต้นเฉลี่ย 0.00 1.03 0.70 0.00 0.90 และ 1.20 เซนติเมตร ส่วนวิธีการให้สารกับต้นกล้วยไม้ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือในระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีความสูงต้นเฉลี่ย 0.00 1.10 0.00 1.15 0.85 และ 1.15 เซนติเมตร ตามลำดับ ความยาวรากพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีความยาวรากเฉลี่ย 0.00 เซนติเมตร ในทุกระดับความเข้มข้น ส่วนวิธีการให้สารกับต้นกล้วยไม้ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือในระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีความยาวรากเฉลี่ย 0.00 เซนติเมตร ในทุกระดับความเข้มข้นยกเว้นที่ระดับความเข้มข้นโพรลีน 1.25 มิลลิโมลาร์ พบความยาวรากเฉลี่ย 0.21 เซนติเมตร จำนวนใบพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีจำนวน

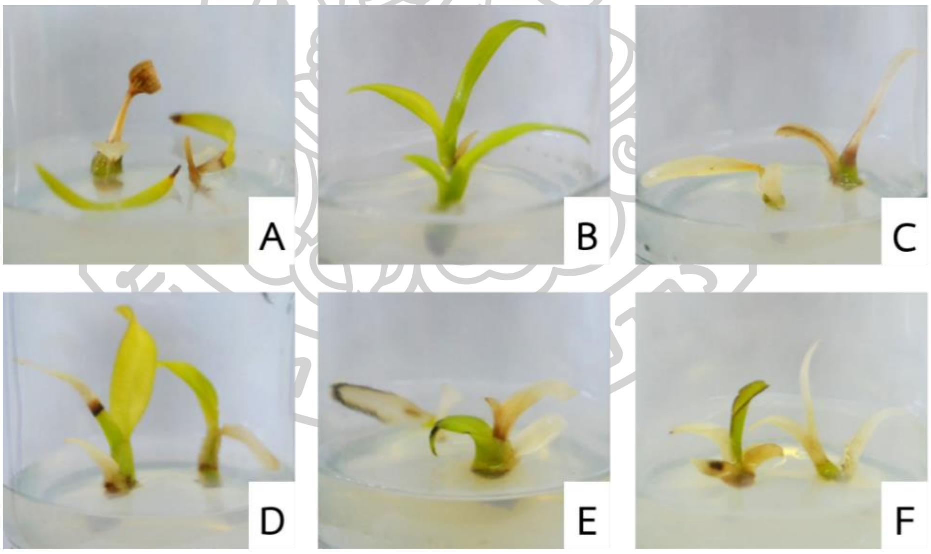
ใบเฉลี่ย 0.00 1.67 2.00 0.00 2.00 และ 2.00 ใบ ส่วนวิธีการให้สารกับต้นกล้วยไม้ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือในระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีจำนวนใบเฉลี่ย 0.00 2.33 0.00 4.00 2.50 และ 3.00 ใบ ตามลำดับ จำนวนรากพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีจำนวนรากเฉลี่ย 0.00 ราก ในทุกระดับความเข้มข้น ส่วนวิธีการให้สารกับต้นกล้วยไม้ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือในระดับความเข้มข้นของโพรลีน 0 1.25 2.5 5 7.5 และ 10 มิลลิโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีจำนวนรากเฉลี่ย 0.00 ราก ในทุกระดับความเข้มข้นยกเว้นที่ระดับความเข้มข้นโพรลีน 1.25 มิลลิโมลาร์ พบจำนวนรากเฉลี่ย 1.33 ราก (รูปที่ 23)



รูปที่ 23 การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายเมื่อได้รับโพรลีน (proline) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เป็นเวลา 10 สัปดาห์; a, b, c, d และ e หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ α= 0.05



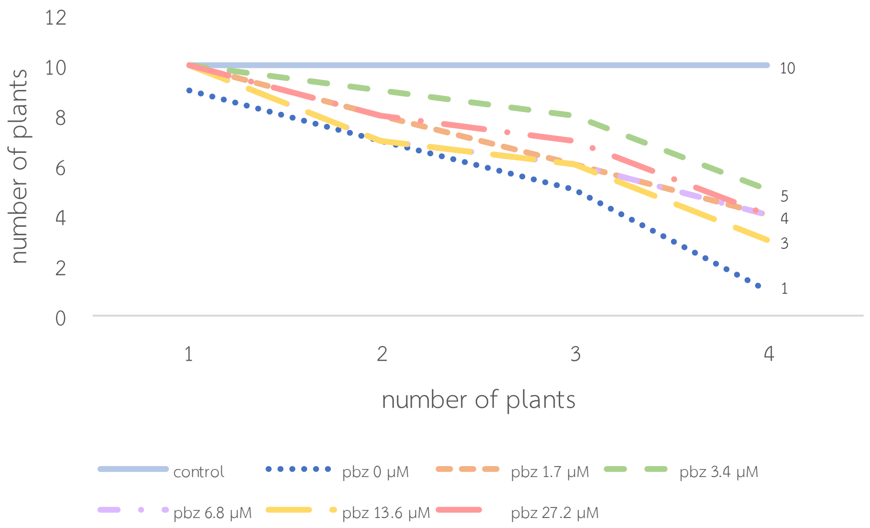
รูปที่ 24 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับโพรลีน (proline) (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) ร่วมกับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์



รูปที่ 25 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับโพรลีน (proline) (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์

4.5 ผลของพาโคลบิวทราโซล (PBZ) ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายที่ได้รับสภาวะความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์

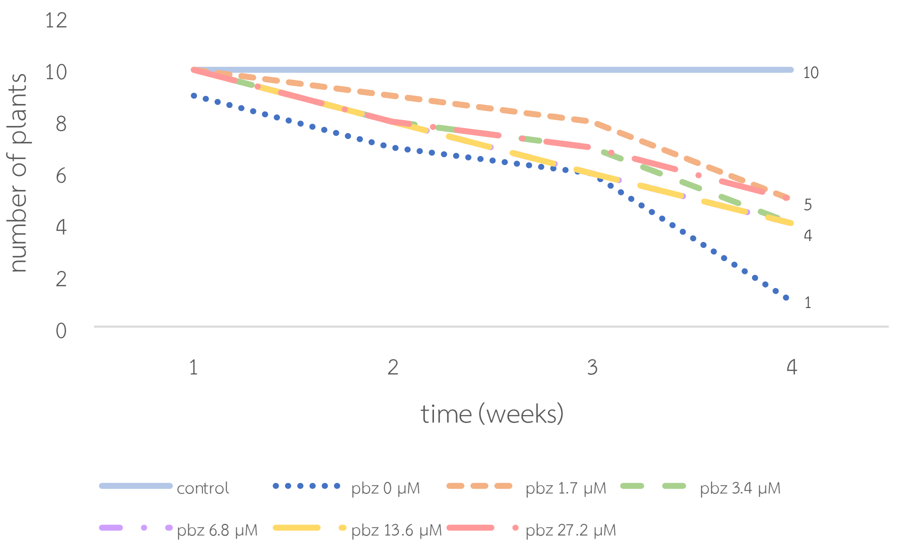
เปรียบเทียบเมื่อให้ต้นกล้วยไม้ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับ PBZ ที่ความเข้มข้นต่างๆ (0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์) พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงต้นกล้วยไม้เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับผลกระทบจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ หรือชุดควบคุม ทำให้พบจำนวนต้นที่รอดชีวิตทั้งหมดคือ 10 ต้น ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ร่วมกับ PBZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ PBZ 0 ไมโครโมลาร์ มีผลทำให้การรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้เหลือเพียง 1 ต้น จากต้นกล้วยไม้ทั้งหมด 10 ต้น ระดับความเข้มข้นของ PBZ 1.7 6.8 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ มีผลทำให้การรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้มีจำนวนต้นที่รอดชีวิตมีเท่ากันคือ 4 ต้น จากทั้งหมด 10 ต้น ระดับความเข้มข้นของ PBZ 3.4 ไมโครโมลาร์ ส่งผลให้ต้นกล้วยไม้มีจำนวนต้นที่รอดชีวิตเพียง 5 ต้น จากต้นกล้วยไม้ทั้งหมด 10 ต้น และที่ระดับความเข้มข้นของ PBZ 13.6 ไมโครโมลาร์ ทำให้เหลือจำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตคงเหลือ 3 ต้น จากทั้งหมด 10 ต้น (รูปที่ 26)



รูปที่ 26 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ ‘Sonia Jo Daeng’ เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซล (PBZ) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

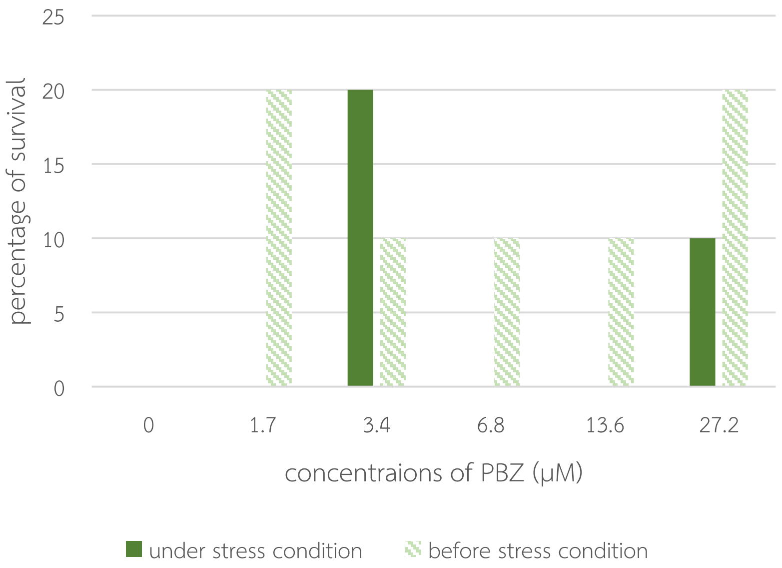
ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์) ก่อนเป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นย้ายลงบนอาหาร VW ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ ผลการทดลองที่ 4 สัปดาห์ พบว่าชุดควบคุมซึ่งเพาะเลี้ยงบนอาหาร VW พบจำนวนต้นที่รอดชีวิตครบทั้งหมด 10 ต้น ส่วนต้นที่ได้รับ PBZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน แล้วนำย้ายลงอาหาร VW ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ ที่ระดับความเข้มข้นของ PBZ 0 ไมโครโมลาร์ พบว่าทำให้มีจำนวนต้นกล้วยไม้รอดชีวิตคงเหลือ 1 ต้น จาก 10 ต้น ระดับความเข้มข้นของ PBZ 1.7

และ 27.2 ไมโครโมลาร์ มีจำนวนต้นรอดชีวิตเท่ากันคือ 5 ต้น จากทั้งหมด 10 ต้น และที่ระดับความเข้มข้นของ PBZ 3.4 6.8 และ 13.6 ไมโครโมลาร์ ทำให้มีจำนวนการรอดชีวิตเหลือเท่ากันคือ 4 ต้น จากต้นกล้วยไม้ทั้งหมด 10 ต้น (รูปที่ 27)



รูปที่ 27 จำนวนต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ 'Sonia Jo Daeng' เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซล (PBZ) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ 'Sonia Jo Daeng' เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซล (PBZ) ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าเมื่อให้ต้นกล้วยไม้ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับ PBZ ที่ระดับความเข้มข้น 0 มิลลิโมลาร์ ทำให้ไม่พบอัตราการรอดชีวิต ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ ที่ระดับความเข้มข้น 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ทำให้มีอัตราการรอดชีวิต 0 20 0 0 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารโดยการให้ PBZ ก่อนแก่ต้นกล้วยไม้เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร VW ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับสาร PBZ ก่อน (PBZ 0 ไมโครโมลาร์) ทำให้ไม่พบอัตราการรอดชีวิต ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ทำให้มีอัตราการรอดชีวิตคือ 20 10 10 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (รูปที่ 28)



รูปที่ 28 อัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ 'Sonia Jo Daeng' เมื่อได้รับพาโคลบิว ทราโซล (PBZ) ภายใต้สภาวะเครียดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์

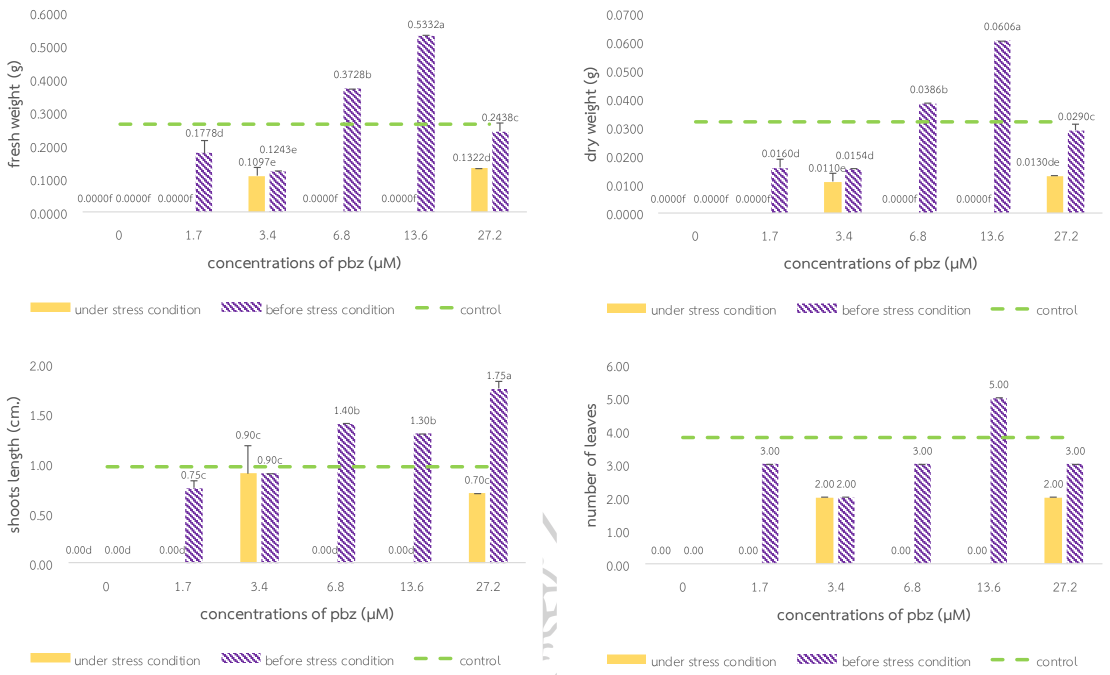
ตารางที่ 6 อัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์และอัตราการตายของต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์ Sonia 'Jo Daeng' เมื่อได้รับพาโคบิวทราโซล (paclobutrazol) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 300 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ pbz (ไมโครโมลาร์)	**อัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์ของต้นกล้วยไม้ (ต้น)**		**อัตราการตายของต้นกล้วยไม้ (เปอร์เซ็นต์)**	
	ใส่สารพร้อมเกลือ	**ใส่สารก่อนเกลือ**	**ใส่สารพร้อมเกลือ**	**ใส่สารก่อนเกลือ**
ชุดควบคุม	0		0	
0	2.60	2.50	90	90
1.7	2.00	1.60	60	50
3.4	1.60	1.90	50	60
6.8	1.90	2.00	50	60
13.6	2.20	2.00	70	60
27.2	1.90	1.60	60	50

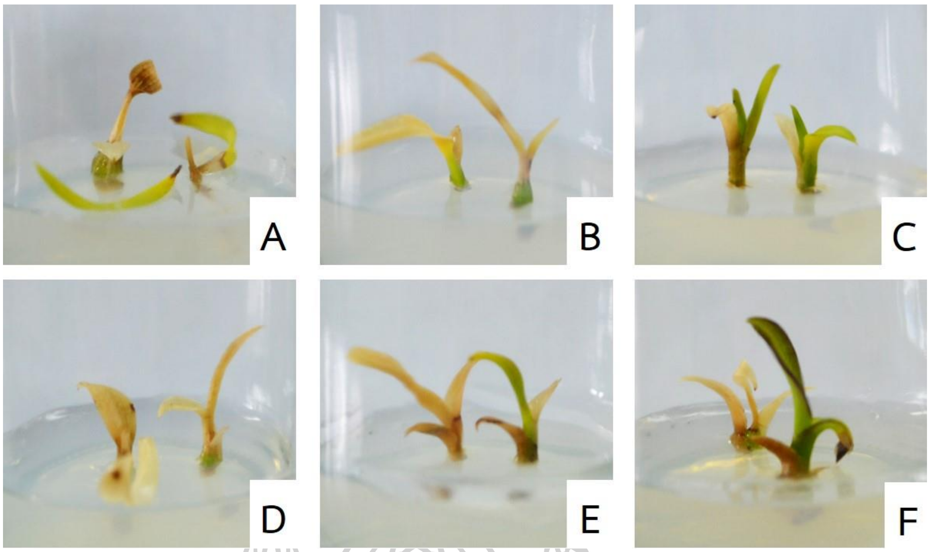
จากตารางอัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์และอัตราการตายของต้นกล้วยไม้สกุลหวายเมื่อพิจารณาที่ 4 สัปดาห์ พบว่าชุดควบคุม หรือต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ไม่พบอัตราการลดลงหรืออัตราการตาย ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับ PBZ ที่ระดับ

ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ พบอัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์คือ 2.60 2.00 1.60 1.90 2.20 และ 1.90 ต้น/สัปดาห์ ตามลำดับ โดยคิดเป็นอัตราการตายได้ 90 60 50 50 70 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือพบว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ไม่พบอัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์และอัตราการตาย ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ เป็นเวลา 7 วัน แล้วย้ายลงบนอาหารที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของ PBZ 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ มีอัตราการลดลงเฉลี่ยต่อสัปดาห์คือ 2.50 1.60 1.90 2.00 2.00 และ 1.60 ต้น/สัปดาห์ ตามลำดับ โดยคิดเป็นอัตราการตายได้ 90 50 60 60 60 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

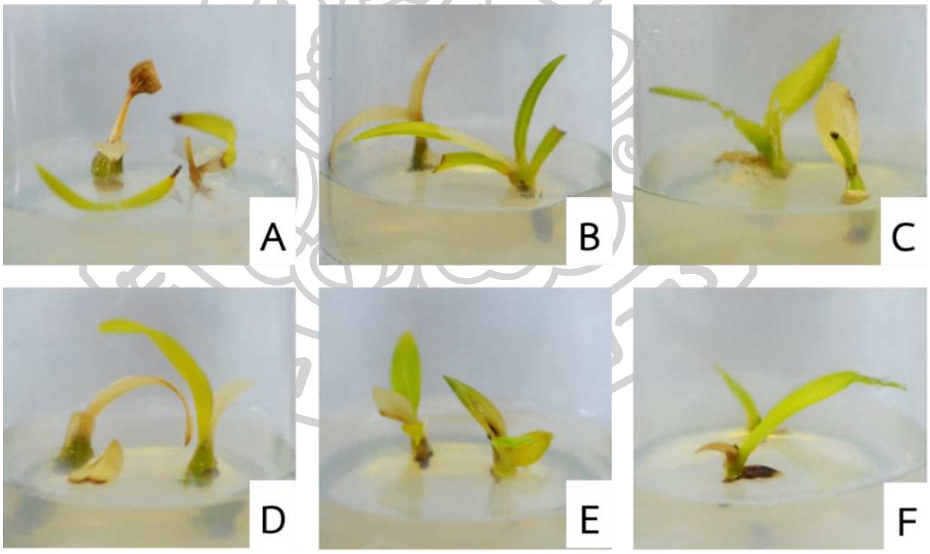
การเจริญเติบโตซึ่งประกอบด้วยน้ำหนักสดพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของ PBZ 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีน้ำหนักสดเฉลี่ย 0.00 0.00 0.1970 0.00 0.00 และ 0.1322 กรัม ส่วนวิธีการให้สารกับต้นกล้วยไม้ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือในระดับความเข้มข้นของ PBZ 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีน้ำหนักสดเฉลี่ย 0.00 0.1778 0.1243 0.3728 0.5332 และ 0.2438 กรัม ตามลำดับ น้ำหนักแห้งพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของ PBZ 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.00 0.00 0.0110 0.00 0.00 และ 0.130 กรัม ส่วนวิธีการให้สารกับต้นกล้วยไม้ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือในระดับความเข้มข้นของ PBZ 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ย 0.00 0.0164 0.0154 0.0386 0.0606 และ 0.0290 กรัม ตามลำดับ ความสูงต้นพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของ PBZ 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีความสูงต้นเฉลี่ย 0.00 0.00 0.90 0.00 0.00 และ 0.70 เซนติเมตร ส่วนวิธีการให้สารกับต้นกล้วยไม้ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือในระดับความเข้มข้นของ PBZ 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีความสูงต้นเฉลี่ย 0.00 0.75 0.90 1.40 1.30 และ 1.75 เซนติเมตร จำนวนใบพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของ PBZ 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 300 มิลลิโมลาร์ ทำให้มีจำนวนใบเฉลี่ย 0.00 0.00 2.00 0.00 0.00 และ 2.00 ใบ ส่วนวิธีการให้สารกับต้นกล้วยไม้ก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือในระดับความเข้มข้นของ PBZ 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีจำนวนใบเฉลี่ย 0.00 3.00 2.00 3.00 5.00 และ 3.00 ใบ ตามลำดับ ตามลำดับ (รูปที่ 29) และไม่พบการเจริญเติบโตของรากจึงทำให้ไม่พบค่าเฉลี่ยของความยาวราก และจำนวนราก



รูปที่ 29 การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้สกุลหวายเมื่อได้รับ PBZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในสภาวะความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม เป็นเวลา 10 สัปดาห์; a, b, c, d, e และ f หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ α= 0.05



รูปที่ 30 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ 'Sonia Jo Daeng' เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซล (PBZ) (A = 0 µM; B = 1.7 µM; C = 3.4 µM; D = 6.8 µM; E = 13.6 µM; F = 27.2 µM) ร่วมกับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์



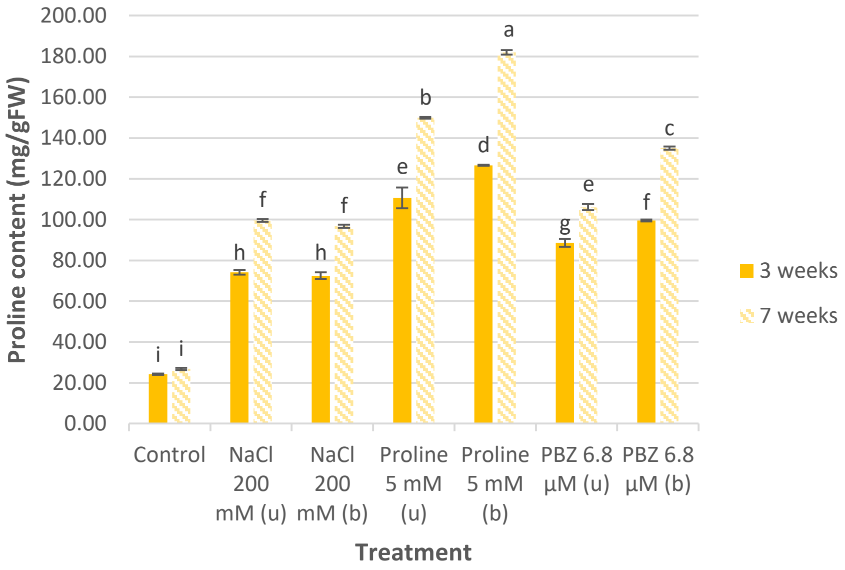
รูปที่ 31 กล้วยไม้สกุลหวายลูกผสมสายพันธุ์ 'Sonia Jo Daeng' เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซล (PBZ) (A = 0 mM; B = 1.25 mM; C = 2.5 mM; D = 5 mM; E = 7.5 mM; F = 10 mM) เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับสภาวะเครียดเนื่องจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ โดยเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์

4.6 **ผลของการให้โพรลีน และพาโคลบิวทราโซลก่อนได้รับหรือเมื่อได้รับความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อการวิเคราะห์ลักษณะทางสรีรวิทยาของกล้วยไม้สกุลหวายโซเนียโจแดง**

การวิเคราะห์ปริมาณโพรลีน

จากผลการทดลองวัดปริมาณโพรลีนที่ 3 สัปดาห์ ในต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารพร้อมเกลือพบว่า ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารโพรลีนจากภายนอกมีปริมาณโพรลีนมากที่สุดคือ 110.63 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ มีปริมาณโพรลีนรองลงมาคือ 88.55 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์พบปริมาณโพรลีนน้อยลงมาคือ 74.12 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด และต้นกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร VW พบปริมาณโพรลีนน้อยที่สุดคือ 24.18 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือผลการวัดปริมาณโพรลีนพบว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีนจากภายนอกยังคงมีปริมาณโพรลีนมากที่สุดคือ 126.62 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด รองลงมาคือต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ มีปริมาณโพรลีนที่วัดได้คือ 99.55 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ วัดปริมาณโพรลีนพบ 72.47 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด และชุดการทดลองที่พบปริมาณโพรลีนน้อยที่สุดคือชุดควบคุม (ต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหาร VW) พบ 24.18 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด

ส่วนที่ 7 สัปดาห์ เมื่อวัดปริมาณโพรลีนพบว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารพร้อมสภาวะความเครียดเกลือพบปริมาณโพรลีนเพิ่มขึ้นจาก 3 สัปดาห์ โดยพบในต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีนจากภายนอกมากที่สุด รองลงมาคือ ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ และต้นกล้วยไม้ชุดควบคุม โดยมีปริมาณโพรลีนที่วัดได้ดังนี้ 149.91 106.05 99.60 และ 26.82 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ส่วนปริมาณ โพรลีนที่วัดได้จากต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือพบปริมาณโพรลีนที่วัดได้โดยเรียงจากมากไปน้อยได้คือ 181.99 135.07 96.73 และ 26.82 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด โดยเรียงจากต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีนจากภายนอก ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ และต้นกล้วยไม้ชุดควบคุม ตามลำดับ (รูปที่ 32)



รูปที่ 32 ปริมาณโพรลีนเมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือและสารโพรลีน 5 มิลลิโมลาร์ หรือ PBZ 6.8 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e, f, g, h และ i หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ α= 0.05

u = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารภายใต้สภาวะความเค็ม

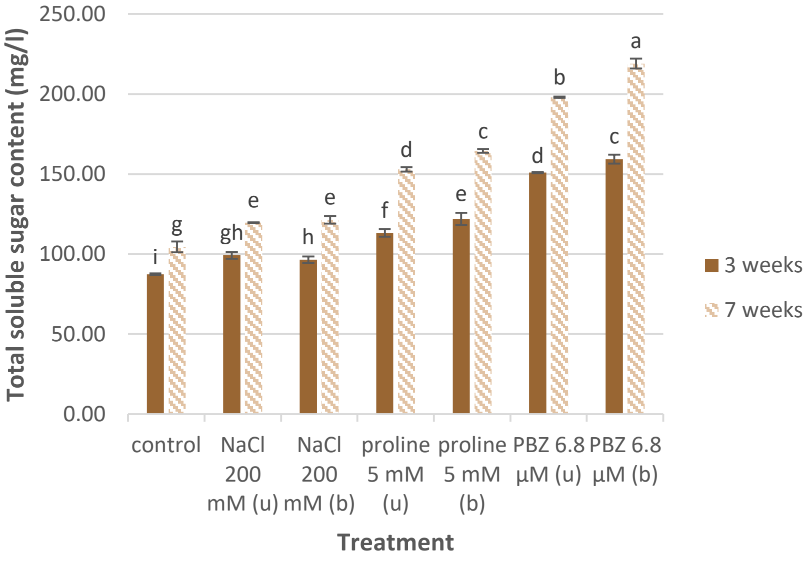
b = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสาร 7 วัน ก่อนย้ายไปเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะความเค็ม

มหาวิทยาลัยศิลปากร

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล

จากการทดลองการวัดปริมาณน้ำตาลในกล้วยไม้ที่ได้รับสภาวะความเครียดเกลือเป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์ โดยจากทั้งสองวิธีการให้สารคือ การให้ต้นกล้วยไม้ได้รับสารพร้อมเกลือ และให้ต้นกล้วยไม้ได้รับสารก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือ พบว่าที่ 3 สัปดาห์ ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารพร้อมเกลือโดยเรียงจากชุดการทดลองที่พบปริมาณน้ำตาลมากที่สุดไปน้อยที่สุดได้คือ ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีน ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ และต้นกล้วยไม้ในชุดควบคุม โดยมีปริมาณน้ำตาลที่วัดได้ดังนี้ 150.90 113.20 99.20 และ 87.41 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ ยังคงมีปริมาณน้ำตาลมากที่สุดคือ 159.28 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด รองลงมาคือต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีนพบปริมาณน้ำตาล 122.01 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ชุดการทดลองที่มีปริมาณน้ำตาลน้อยลงมาคือ ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์พบปริมาณน้ำตาล 96.45 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด และชุดควบคุมพบปริมาณน้ำตาลน้อยที่สุดคือ 87.41 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด

ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารพร้อมสภาวะความเครียดเกลือเป็นเวลา 7 สัปดาห์ พบปริมาณน้ำตาลโดยเรียงจากมากไปน้อยได้คือ 197.92 152.85 119.61 และ 104.47 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด โดยจากปริมาณน้ำตาลดังกล่าวเรียงตามลำดับได้ดังนี้ ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีน ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ และต้นกล้วยไม้ชุดควบคุม ตามลำดับ และต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือเรียงชุดการทดลองที่มีปริมาณน้ำตาลจากมากไปน้อยได้ดังนี้คือ ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ พบปริมาณน้ำตาล 219.03 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีนมีปริมาณโพรลีนเท่ากับ 164.53 มิลลิกรัมกรัม/น้ำหนักสด ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์พบปริมาณน้ำตาล 121.41 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด และต้นกล้วยไม้ชุดควบคุมมีปริมาณน้ำตาล 104.47 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ (รูปที่ 33)



รูปที่ 33 ปริมาณน้ำตาลเมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือและสารโพรลีน 5 มิลลิโมลาร์ หรือ PBZ 6.8 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e, f, g, h และ i หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ α= 0.05

u = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารภายใต้สภาวะความเค็ม

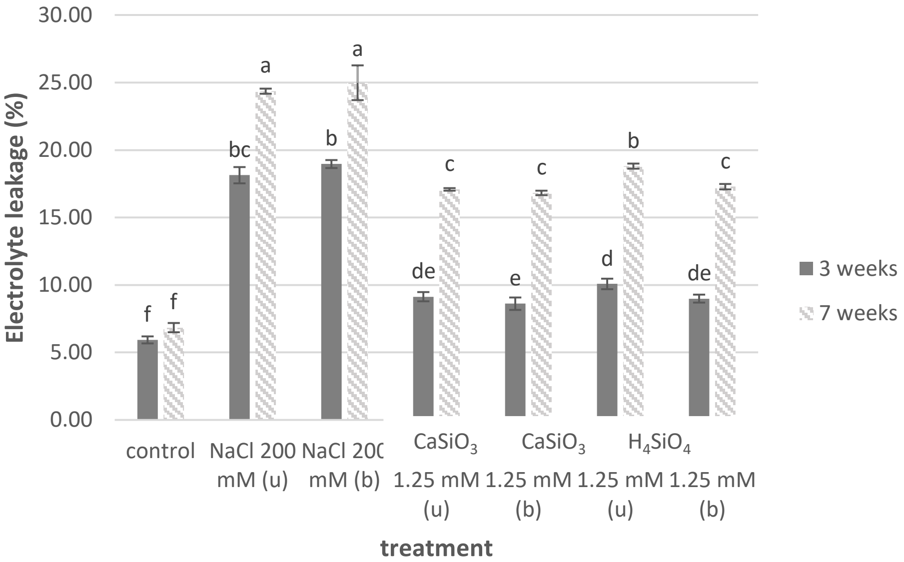
b = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสาร 7 วัน ก่อนย้ายไปเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะความเค็ม

การวิเคราะห์ปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์

จากการทดลองพบว่าต้นกล้วยไม้ที่ถูกเลี้ยงด้วยการให้สารทั้ง 2 วิธี และวัดหาค่าการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ในสัปดาห์ที่ 3 และ 7 พบว่าที่ 3 สัปดาห์ ต้นกล้วยไม้ที่ถูกเลี้ยงโดยการให้สารทั้ง 2 วิธี คือการได้รับสารพร้อมเกลือ และการได้รับสารก่อนสภาวะความเครียดเกลือผลการทดลองไปในทิศทางเดียวกันคือ ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์พบการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์มากที่สุด รองลงมาคือต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารโพรลีน ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสาร PBZ และต้นกล้วยไม้ชุดควบคุมที่ถูกเลี้ยงบนอาหาร VW โดยเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ของต้นกล้วยไม้ที่ถูกเลี้ยงบนอาหารที่มีสารร่วมกับเกลือจากมากไปน้อยได้ดังนี้ 18.00 10.25 9.54 และ 5.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารก่อนสภาวะความเครียดเกลือมีเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ดังนี้คือ 19.46 9.62 8.83 และ 5.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ที่ 7 สัปดาห์ พบเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์เพิ่มขึ้นโดยต้นกล้วยไม้ที่ถูกเลี้ยงบนอาหารที่มีสารพร้อมเกลือพบเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ซึ่งเรียงจากมากไปน้อยคือ ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ (24.93%) ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ (18.47%) ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีน (17.37%) และต้นกล้วยไม้ชุดควบคุม (6.51%) ตามลำดับ และเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ของต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือแสดงผลดังนี้คือ ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์มีระดับการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์มากที่สุดคือ 25.65% รองลงมาคือต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารโพรลีนคือ 16.65% ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ คือ 15.81% และต้นกล้วยไม้ที่ถูกเลี้ยงบนอาหาร VW ปกติ 6.51% เรียงจากมากไปน้อยตามลำดับ (รูปที่ 34)

มหาวิทยาลัยศิลปากร



รูปที่ 34 ปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์เมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือและสารโพรลีน 5 มิลลิโมลาร์ หรือ PBZ 6.8 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e และ f หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ α= 0.05

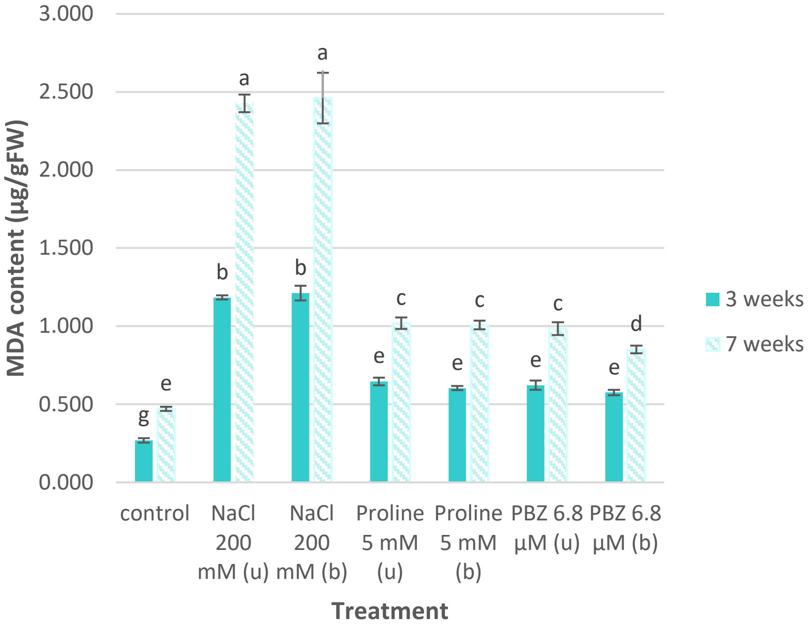
u = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารภายใต้สภาวะความเค็ม

b = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสาร 7 วัน ก่อนย้ายไปเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะความเค็ม

การวิเคราะห์ปริมาณ Malondialdehyde (MDA)

จากการทดลองพบว่าที่ 3 สัปดาห์ ของการเพาะเลี้ยงทั้ง 2 รูปแบบการให้ต้นกล้วยไม้ได้รับสารมีปริมาณ MDA ไปในทิศทางเดียวกันโดยเรียงจากชุดการทดลองที่มีค่า MDA มากไปน้อยได้คือ ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์มีปริมาณ MDA มากที่สุด รองลงมาคือต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีน ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ และต้นกล้วยไม้ชุดควบคุมตามลำดับ แสดงปริมาณ MDA ที่ได้รับสารพร้อมเกลือได้คือ 1.183 0.645 0.622 และ 0.268 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด และปริมาณ MDA ของต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารก่อนสภาวะความเครียดเกลือแสดงได้ดังนี้คือ 1.211 0.603 0.575 และ 0.268 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ

ส่วนการวัดปริมาณ MDA ที่ 7 สัปดาห์ พบว่ามีปริมาณ MDA เพิ่มขึ้นจาก 3 สัปดาห์ โดยจากทั้ง 2 รูปแบบการให้สารมีค่าปริมาณ MDA สอดคล้องไปในทิศทางเดียวกันคือ ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์มีค่า MDA สูงที่สุด รองลงมาคือต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีน ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ และต้นกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร VW ปกติ มีค่า MDA น้อยที่สุด แสดงค่า MDA ของต้นกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีสารร่วมกับเกลือโซเดียมคลอไรด์จากมากไปน้อยคือ 2.427 1.019 0.983 และ 0.407 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ถูกให้ได้รับสารก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือแสดงปริมาณ MDA ได้ดังนี้คือ 2.461 1.007 0.851 และ 0.470 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ (รูปที่ 35)



รูปที่ 35 ปริมาณ MDA เมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือและสารโพรลีน 5 มิลลิโมลาร์ หรือ PBZ 6.8 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e, f และ g หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ α= 0.05

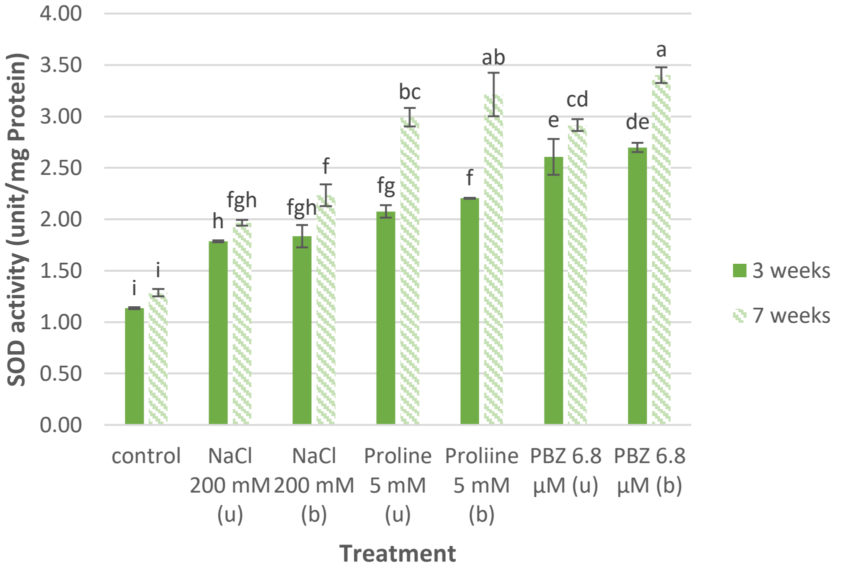
u = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารภายใต้สภาวะความเค็ม

b = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสาร 7 วัน ก่อนย้ายไปเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะความเค็ม

การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD)

จากการทดลองพบว่าต้นกล้วยไม้ที่ถูกเลี้ยงด้วยการให้สารทั้ง 2 วิธี และทดสอบหากิจกรรมของเอนไซม์ SOD ในสัปดาห์ที่ 3 และ 7 พบว่าที่ 3 สัปดาห์ ต้นกล้วยไม้ที่ถูกเลี้ยงโดยการให้สารทั้ง 2 วิธี คือการได้รับสารพร้อมเกลือ และการได้รับสารก่อนสภาวะความเครียดเกลือผลการทดลองไปในทิศทางเดียวกันคือ ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสาร PBZ พบกิจกรรมของเอนไซม์ SOD มากที่สุด รองลงมาคือต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารโพรลีน ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ และต้นกล้วยไม้ชุดควบคุมที่ถูกเลี้ยงบนอาหาร VW โดยพบกิจกรรมของเอนไซม์ SOD ของต้นกล้วยไม้ที่ถูกเลี้ยงบนอาหารที่มีสารร่วมกับเกลือจากมากไปน้อยได้ดังนี้ 2.61 2.08 1.79 และ 1.14 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ และต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารก่อนสภาวะความเครียดเกลือมีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD ดังนี้คือ 2.70 2.20 1.84 และ 1.14 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ

ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์ SOD ที่ 7 สัปดาห์ พบว่ามีเพิ่มขึ้นจาก 3 สัปดาห์ ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารพร้อมสภาวะความเครียดเกลือจะพบว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารโพรลีน และ PBZ จะทำให้มีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD มากกว่าต้นกล้วยม้ที่ไม่ได้รับสารโดยต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีนมีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD เท่ากับ 2.99 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ มีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD รองลงมาคือ 2.92 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์พบกิจกรรมของเอนไซม์ SOD เท่ากับ 1.97 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน และต้นกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร VW ปกติ มีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD น้อยที่สุดเท่ากับ 1.29 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ถูกให้ได้รับสารก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือแสดงกิจกรรมของเอนไซม์ SOD จากมากไปน้อยได้ดังนี้คือ ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ โพรลีน เกลือโซเดียมคลอไรด์ และต้นกล้วยไม้ชุดควบคุม โดยแสดงค่ากิจกรรมของเอนไซม์ SOD ได้คือ 3.40 3.21 2.23 และ 1.20 ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน (รูปที่ 36) ตามลำดับ



รูปที่ 36 กิจกรรมของเอนไซม์ SOD เมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือและสารโพรลีน 5 มิลลิโมลาร์ หรือ PBZ 6.8 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e, f, g, h และ i หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ α= 0.05

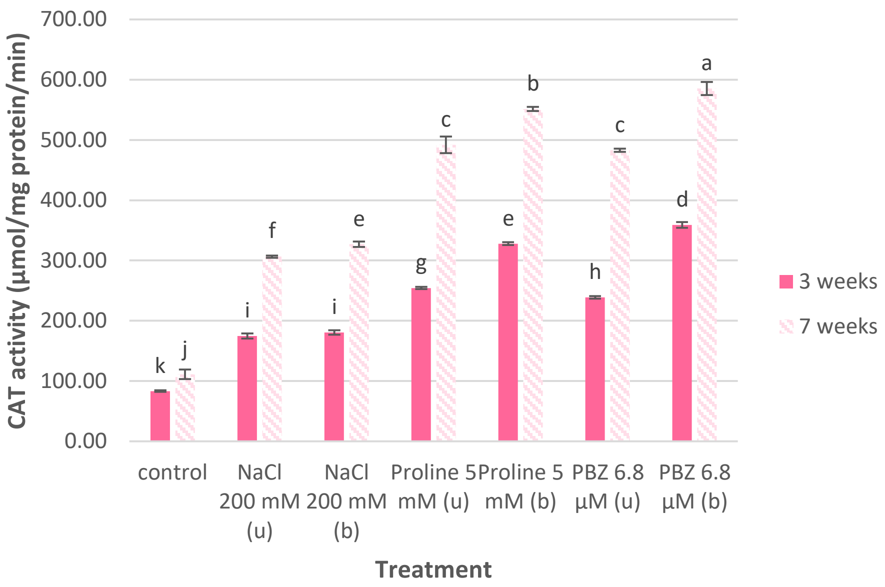
u = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารภายใต้สภาวะความเค็ม

b = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสาร 7 วัน ก่อนย้ายไปเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะความเค็ม

การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ Catalase (CAT)

จากการทดลองพบว่าต้นกล้วยไม้ที่ถูกเลี้ยงด้วยการให้สารทั้ง 2 วิธี และทดสอบหากิจกรรมของเอนไซม์ CAT ในสัปดาห์ที่ 3 และ 7 พบว่าที่ 3 สัปดาห์ ต้นกล้วยไม้ที่ถูกเลี้ยงโดยการให้ต้นกล้วยไม้ได้รับสารพร้อมเกลือผลการทดลองพบว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารทั้งโพรลีน และ PBZ มีกิจกรรมของเอนไซม์ CAT มากกว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์เพียงอย่างเดียว และต้นกล้วยไม้ชุดควบคุม โดยต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีนพบกิจกรรมของเอนไซม์ CAT มากที่สุดคือ 254.34 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที และรองลงมาคือ ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ พบกิจกรรมของเอนไซม์ CAT 238.84 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์มีกิจกรรมของเอนไซม์ CAT เท่ากับ 174.60 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที และต้นกล้วยไม้ชุดควบคุมพบการได้รับกิจกรรมของเอนไซม์ CAT น้อยที่สุดคือ 83.32 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารก่อนสภาวะความเครียดเกลือผลการทดลองคือ ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสาร PBZ พบกิจกรรมของเอนไซม์ CAT มากที่สุด รองลงมาคือต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารโพรลีน ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ และต้นกล้วยไม้ชุดควบคุมที่ถูกเลี้ยงบนอาหาร VW โดยพบกิจกรรมของเอนไซม์ CAT ดังนี้คือ 358.94 327.92 180.5 และ 83.32 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที ตามลำดับ

ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์ CAT ในสัปดาห์ที่ 7 พบว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารโพรลีน และ PBZ จะทำให้มีกิจกรรมของเอนไซม์ CAT มากกว่าต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับสารเช่นเดียวกับในสัปดาห์ที่ 3 แต่พบมีเพิ่มขึ้นจาก 3 สัปดาห์ โดยต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารพร้อมสภาวะความเครียดเกลือในสัปดาห์ที่ 7 นี้พบว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีนมีกิจกรรมของเอนไซม์ CAT มากที่สุดถึง 491.74 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ มีกิจกรรมของเอนไซม์ CAT รองลงมาคือ 482.72 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์พบกิจกรรมของเอนไซม์ CAT เท่ากับ 306.42 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที และต้นกล้วยไม้ที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร VW ปกติ มีกิจกรรมของเอนไซม์ CAT น้อยที่สุดเท่ากับ 111.01 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ถูกให้ได้รับสารก่อนได้รับสภาวะความเครียดเกลือแสดงกิจกรรมของเอนไซม์ CAT จากมากไปน้อยได้ดังนี้คือ ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ โพรลีน เกลือโซเดียมคลอไรด์ และต้นกล้วยไม้ชุดควบคุม โดยแสดงค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CAT ได้คือ 585.40 515.34 327.07 และ 111.01 ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที ตามลำดับ (รูปที่ 37)



รูปที่ 37 กิจกรรมของเอนไซม์ CAT เมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับความเครียดเกลือและสารโพรลีน 5 มิลลิโมลาร์ หรือ PBZ 6.8 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 3 และ 7 สัปดาห์; a, b, c, d, e, f, g, h, I, j และ k หมายถึงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ α= 0.05

u = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสารภายใต้สภาวะความเค็ม

b = ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับสาร 7 วัน ก่อนย้ายไปเพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะความเค็ม

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 ผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ในความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลอง

สภาวะความเครียดต่างๆที่พืชได้รับรวมถึงสภาวะความเครียดเกลือเป็นสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของพืชโดยมีผลทำให้การเจริญเติบโต และผลผลิตของพืชลดต่ำลง เนื่องจากผลของความเค็มจากเกลือทำให้ต้นพืชเสียสมดุลต่างๆภายในเซลล์พืช เช่นการเสียสมดุลของไอออน และสมดุลของแรงดันออสโมติก (Kozlowsik, 1968)

ผลการศึกษาผลของเกลือโซเดียมคลอไรด์ในความเข้มข้น 0 100 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายในหลอดทดลองเป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้โดยส่งผลกระทบเชิงลบกล่าวคือ เมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับเกลือ NaCl ในระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ร้อยละการรอดชีวิต และระยะเวลาการรอดชีวิตลดลง (รูปที่ 3; รูปที่ 6) การเจริญเติบโตต่างๆลดลง (รูปที่ 5) รวมถึงอัตราการลดลงของต้นกล้วยไม้ต่อสัปดาห์ในสัปดาห์ที่ 7 (ตารางที่ 2) พบว่าการลดลงจะมีเพิ่มขึ้นเมื่อระดับความเข้มข้นของเกลือ NaCl เพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากเมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับสภาวะความเครียดเกลือในระดับที่รุนแรงขึ้นต้องมีการปรับตัวเพื่อให้สามารถอยู่รอดได้ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่นการลดการเปิดปากใบ (stomatal conductance) เพื่อลดอัตราการคายน้ำ (transpiration rate) นอกจากนี้การปิดปากใบยังมีผลทำให้การสังเคราะห์แสงลดน้อยลงเนื่องจากปริมาณคาร์บอนที่ปากใบลดลง (Muchate et al., 2016) จึงส่งผลต่อการเจริญเติบโตที่ลดลงด้วย และการเจริญเติบโตของพืชที่ลดลงยังมีผลเนื่องมาจากการเสียสมดุลของแร่ธาตุ (nutrient imbalance) และความเป็นพิษของไอออน (ion toxicity) โดยเมื่อพืชอยู่ในสภาวะความเค็มส่งผลให้การดูดซึมน้ำ และแร่ธาตุอื่นๆลดลง ในขณะที่มีการดูดซึม Na^{+} และ Cl^{-} เข้าสู่พืชมากเกินความจำเป็น ทำลายกระบวนการต่างๆภายในพืช (Flowers et al., 1991) ส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโตลดลง

และผลการวัดค่าระดับความเป็นพิษของเกลือ NaCl จากการวิเคราะห์ค่า LC_{50} ที่ 7 สัปดาห์พบว่ามีการตาย 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อได้รับเกลือโซเดียมคลอไรด์ 173.78 มิลลิโมลาร์ และจากการทดลองที่ระดับความเข้มข้นของเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ มีค่าใกล้เคียงกับระดับความเข้มข้นที่ทำให้กล้วยไม้ตาย 50 เปอร์เซ็นต์ จึงนำความเข้มข้นของเกลือ 200 มิลลิโมลาร์ มาทดสอบผลของสารโพรลีน และ PBZ ในการชะลอ และช่วยลดผลกระทบจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ในการทดลองถัดไป

5.2 ผลของโพรลีนต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายที่ได้รับสภาวะความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์

โดยทั่วไปเมื่อพืชอยู่ในสภาวะความเค็มจะมีการปรับตัวเพื่อให้สามารถอยู่รอดในสภาพแวดล้อมนั้นโดยการสะสมสารต่างๆภายในเซลล์ เช่น น้ำตาล และโพรลีน โดยในการทดลองให้ต้นกล้วยไม้ได้รับโพรลีนจากภายนอกที่ระดับความเข้มข้น 0 1.25 2.5 5.0 7.5 และ 10.0 มิลลิโมลาร์ เพื่อช่วยลดผลกระทบเชิงลบของเกลือ NaCl 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ ซึ่งจากผลการทดลองการที่ต้นกล้วยไม้ได้รับโพรลีนในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมมีผลช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิต (รูปที่ 10) การเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ (รูปที่ 11) รวมถึงช่วยลดอัตราการลดลงของต้นกล้วยไม้ต่อสัปดาห์ (ตารางที่ 3) โดยระดับความเข้มข้นของโพรลีนที่ดีที่สุดของวิธีการให้ต้นกล้วยไม้ได้รับสารร่วมกับเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ คือโพรลีน 2.5 มิลลิโมลาร์ เนื่องจากมีผลช่วยเพิ่มระยะเวลาการอดชีวิต (รูปที่ 8) และการเจริญเติบโตต่างๆ ส่วนระดับความเข้มข้นของโพรลีนที่ดีที่สุดของวิธีการให้ต้นกล้วยไม้ได้รับสารก่อนเป็นเวลา 7 วัน แล้วย้ายลงภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ คือโพรลีน 5.0 มิลลิโมลาร์ เนื่องจากโพรลีนเป็นสาร osmoprotectants การสะสมโพรลีนภายในพืชที่เจริญภายใต้สภาวะความเค็มช่วยลดความต่างศักย์ของน้ำภายในและภายนอกเซลล์ ทำให้เกิดสมดุลของน้ำและแร่ธาตุภายในเซลล์กับสิ่งแวดล้อม โดยเพิ่มการดูดซึมของ K^+ Ca^+ P และ N ส่งเสริมให้พืชสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะความเครียด (Ali et al., 2008) สอดคล้องกับการทดลองของ Roy et al. (1993) รายงานว่าการให้โพรลีนจากภายนอกในระดับความเข้มข้นที่ต่ำๆจะช่วยลดผลกระทบของความเค็มในข้าว และ Ehsanpour & Fatahian (2003) รายงานว่าการเพิ่ม โพรลีนลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีสภาวะความเครียดเกลือจะช่วยเพิ่มน้ำหนักแห้งในแคลลัสของ alfafa

แต่เมื่อให้โพรลีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆกับต้นกล้วยไม้ที่ได้รับความเครียดเกลือ 300 มิลลิโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีจำนวนลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงสัปดาห์ที่ 10 เนื่องจากที่ระดับความเข้มข้นของเกลือ 300 มิลลิโมลาร์ เป็นระดับความเข้มข้นที่มากเกินไป

5.3 ผลของพาโคลบิวทราโซล (PBZ) ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวายที่ได้รับสภาวะความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์เป็นเวลา 10 สัปดาห์

สารเคมีที่มีผลช่วยในการปรับตัวของพืชเมื่ออยู่ในสภาวะความเครียดนอกจากโพรลีนแล้วยังมีสารกลุ่ม triazol เช่น พาโคลบิวทราโซล (PBZ) ที่มีความสามารถในการช่วยให้พืชทนต่อสภาวะความเครียดได้ โดยจากผลการทดลองเปรียบการให้ต้นกล้วยไม้ได้รับสาร PBZ ที่ระดับความเข้มข้น 0 1.7 3.4 6.8 13.6 และ 27.2 ไมโครโมลาร์ เพื่อลดผลกระทบของเกลือ NaCl 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ ต่อการเจริญเติบโตในหลอดทดลอง ซึ่งจากการทดลองพบว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ 1.7 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เป็นความเข้มข้นที่ทำให้ต้นกล้วยไม้มีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุด (รูปที่ 16) ส่วนต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ ด้วยวิธีการให้ได้รับก่อนแล้วย้ายลงในสภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ ความเข้มข้นของ PBZ ที่ดีที่สุดคือ 6.8 ไมโครโมลาร์ เนื่องจากพบอัตราการเจริญเติบโตมากที่สุดโดยเฉพาะการเจริญเติบโตของรากซึ่งมีจำนวนรากสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับ PBZ หรือได้รับ PBZ ในความเข้มข้นอื่นๆ (รูปที่ 17) โดยลักษณะต้นกล้วยไม้ที่เจริญเติบโตเมื่อได้รับ PBZ ลำต้นจะไม่สูง ใบหนา และมีสีเขียวเข้ม เช่นเดียวกับการศึกษาผลของ PBZ ที่ส่งเสริมให้ใบของกุหลาบ และข้าวโพดหนาขึ้นในชั้นของ epiticular wax layer ในสภาวะความเค็ม (Jenks et al., 2001; Sopher et al., 1999) และการเพิ่มขึ้นของความหนาและความยาวใน palisade cell และความหนาแน่นของเนื้อเยื่อ spongy mesophyll ในมันฝรั่งเมื่อเจริญเติบโตในสภาวะความเค็ม (Tsegaw et al., 2005) จากผลการทดลองต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมจะส่งเสริมการเจริญเติบโต สามารถอยู่รอดได้แม้อยู่ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ อาจเป็นผลเนื่องจากผลของ PBZ ที่ใส่ลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่งเสริมให้เกิดการสร้างราก (Jaleel et al., 2007) นอกจากนี้ PBZ ยังชักนำให้เกิดการปิดปากใบเพื่อลดการสูญเสียน้ำ (Sreedhar, 1991) และเพิ่มประสิทธิภาพในการสังเคราะห์ด้วยแสง ส่งเสริมให้พืชที่ได้รับ PBZ มีความหนา และความเขียวของใบเพิ่มมากขึ้น (Jenks et al., 2001; Zhou & Xi, 1993)

5.4 ผลของการให้โพรลีน และพาโคลบิวทราโซลก่อนได้รับหรือเมื่อได้รับความเครียดเกลือโซเดียมคลอไรด์ต่อการวิเคราะห์ลักษณะทางสรีรวิทยาของกล้วยไม้สกุลหวายโซเนียโจแดง

โดยทั่วไปเมื่ออยู่ในสภาวะความเครียดพืชจะมีการปรับตัวในการป้องกันตัวเองโดยเพิ่มการสะสมสาร compatible solutes เช่น โพรลีน และน้ำตาล โดยกลไกที่สำคัญคือการรักษาสมดุลของแรงดันออสโมติก (osmotic stability) เพื่อให้เซลล์พืชไม่สูญเสียน้ำสามารถทนอยู่ได้ในสภาวะความเครียด (Bandurska, 2000) จากผลการทดลองการวัดปริมาณโพรลีนและน้ำตาลของกล้วยไม้ในสภาวะความเครียดเกลือ พบการสะสมปริมาณโพรลีนและน้ำตาลมากในชุดการทดลองที่ต้นกล้วยไม้ได้รับสารโพรลีน และ PBZ ซึ่งทำให้พืชสามารถเจริญเติบโตได้ภายใต้สภาวะความเครียดเกลือ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับโพรลีน หรือ PBZ เนื่องจากสารทั้ง 2 ชนิด มีคุณสมบัติในการรักษาสมดุลของน้ำ และแร่ธาตุ สอดคล้องกับการทดลองของ Parvin et al. (2015) โดยศึกษาในสตอว์เบอรี่ที่อยู่ในสภาวะขาดน้ำ ผลการทดลองพบว่าการได้รับ PBZ ทำให้มีปริมาณการสะสมโพรลีนเพิ่มขึ้น ส่งเสริมให้พืชสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ Ehsanpour & Fatahian (2003) รายงานว่าเมื่อเพิ่มโพรลีนจากภายนอกลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้กับ alfafa ในสภาวะความเครียดเกลือในหลอดทดลองพบว่ามีการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักแห้ง และปริมาณโพรลีนที่สะสม เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ไม่ได้รับโพรลีน

พืชเมื่อได้รับสภาวะความเครียดต่างๆ รวมถึงสภาวะความเครียดเกลือจะทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (oxidant) ภายในต้นพืชเพิ่มมากขึ้นซึ่งมีผลทำให้สารดังกล่าวเข้าไปทำลาย phospholipid บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์เกิดปฏิกิริยา peroxidation และมีปริมาณ malondialdehyde; MDA เป็นผลที่เกิดจากการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าว ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิดการเสื่อมสภาพ เกิดการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ (electrolyte leakage; EL) (Mittler, 2002; P. Sharma & Dubey, 2005) ความเค็มชักนำให้พืชสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ทั้งที่เป็นเอนไซม์ (enzymatic) และไม่ใช่เอนไซม์ (non-enzymatic) เพื่อกำจัดอนุมูลอิสระที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ (Gill & Tuteja, 2010)

จากผลการวิเคราะห์การรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์และปริมาณ MDA ในต้นกล้วยไม้ที่ได้รับความเครียดเกลือ พบว่าเมื่อต้นกล้วยไม้ได้รับเกลือเป็นเวลา 3 สัปดาห์ มีการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์และพบปริมาณ MDA มากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับเกลือและมีปริมาณเพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อเพิ่มระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเป็น 7 สัปดาห์ (รูปที่ 34; 35) เนื่องจากเมื่อพืชได้รับความเครียดจะมีการสร้าง ROS เพิ่มมากขึ้น เกิดปฏิกิริยากับไขมัน ส่งผลทำลายโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้มีการรั่วไหลของสารภายในเซลล์ ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช (Agarie et al., 1995; Xie et al., 2015) สอดคล้องกับการศึกษาการเพิ่มขึ้นของปริมาณของ MDA เมื่อได้รับความเครียดที่เกิดจากการขาดน้ำในถั่ว (Yasar et al., 2008) และข้าวสาลี (Abbadi et al., 2015; Aly & Latif, 2011) นอกจากนี้ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับความเค็มยังพบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์ Superoxide dismutase; SOD และ catalase; CAT เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับความเค็ม (รูปที่ 4.34; 4.35) ในขณะที่ต้นที่ได้รับโพรลีน และ PBZ ในสภาวะความเค็ม พบการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์และปริมาณ MDA ต่ำกว่าต้นที่ได้รับความเค็มเพียงอย่างเดียว (รูปที่ 34; 35) แต่กลับมีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD และ

CAT เพิ่มสูงขึ้น และเพิ่มขึ้นสูงสุดเมื่อได้รับความเค็มเป็นระยะเวลา 7 สัปดาห์ โดยเฉพาะในต้นที่ได้รับ PBZ ที่ระดับความเข้มข้น 6.8 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนได้รับความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ (รูปที่ 36; รูปที่ 37) ซึ่งเป็นผลมาจากการที่ PBZ มีผลยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation เนื่องจากส่งเสริมการสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ จึงชักนำให้พืชมีประสิทธิภาพในการทนต่อความเค็มมากยิ่งขึ้น (Fletcher et al., 2000)สอดคล้องกับงานวิจัยของ Gopi et al. (2007) ศึกษาการเจริญเติบโตของแครอท พบว่า PBZ ลดการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ และปฏิกิริยา lipid peroxidation แต่ช่วยเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อได้รับสภาวะขาดน้ำ เช่นเดียวกับการให้โพรลีนชักนำให้เกิดการยับยั้งการสร้าง ROS ในพืช โดยการส่งเสริมการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระทั้งเอนไซม์ CAT peroxidase; POX และ SOD เช่นเดียวกับการศึกษาประสิทธิภาพการทนเค็มของต้นยาสูบในสภาวะความเค็ม พบว่ามีเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระดังกล่าวเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับโพรลีน (Hoque et al., 2007) นอกจากนี้ PBZ ยังช่วยลดการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ในต้นกล้าข้าวสาลีเมื่อได้รับสภาวะความเครียด (Aly & Latif, 2011) ดังนั้นการให้สารโพรลีน หรือ PBZ ส่งเสริมให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาบางประการของต้นกล้วยไม้เมื่อได้รับความเครียดเกลือ

สรุปผลการทดลอง

- ต้นกล้วยไม้สกุลหวายสายพันธุ์โซเนียโจแดงพบการตายโดยประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้นของเกลือ NaCl 173.78 มิลลิโมลาร์

- ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีน 2.5 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีอัตราการรอดชีวิต และการเจริญเติบโตสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับโพรลีน หรือต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีนที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ

- ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีน 5 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายลงสภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุด และเป็นระดับความเข้มข้นที่ทำให้ระยะเวลาการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้มีมากที่สุด

- ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ 1.7 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับ PBZ หรือต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ ที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ

- ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับ PBZ 6.8 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 7 วัน ก่อนย้ายลงสภาวะความเครียดเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีอัตราการรอดชีวิตมากกว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือเพียงอย่างเดียว และเป็นระดับความเข้มข้นที่ทำให้ระยะเวลาการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม้มีมากที่สุด

- ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือ NaCl 300 มิลลิโมลาร์ ทำให้ต้นกล้วยไม้มีอัตราการลดลงเพิ่มขึ้นในทุกๆสัปดาห์ไปจนถึงสัปดาห์ที่ 10 เหลือต้นกล้วยไม้ที่มีชีวิตรอดเพียง 6.67 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเป็นระดับความเข้มข้นของเกลือ NaCl ที่รุนแรงมากเกินไปจึงทำให้ทั้งโพรลีน และ PBZ ในทุกๆระดับความเข้มข้นไม่สามารถทำให้ผลกระทบเชิงลบของเกลือ NaCl ที่เกิดขึ้นลดลงได้

- ต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีน หรือ PBZ เมื่อนำมาวิเคราะห์ลักษณะทางสรีระวิทยาต่างๆพบว่ามีปริมาณโพรลีน น้ำตาล กิจกรรมของเอนไซม์ SOD และ CAT มีมากกว่าในชุดการทดลองที่ต้นกล้วยไม้ได้รับเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เพียงอย่างเดียว

- ปริมาณ MDA และเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ในต้นกล้วยไม้ที่ได้รับโพรลีน หรือ PBZ มีน้อยกว่าต้นกล้วยไม้ที่ได้รับเกลือ NaCl 200 มิลลิโมลาร์ เพียงอย่างเดียว

รายการอ้างอิง

Abbadi, A., Shekari, F., & Mustafavi, S. H. (2015). Effect of paclobutrazol and salicylic acid on antioxidants enzyme activity in drought stress in wheat. *Idesia, 33*(4), 5-13.

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

Agarie, S., Hanaoka, N., Kubota, F., Agata, W., & Kaufman, P. B. (1995). Measurement of cell membrane stability evaluated by electrolyte leakage as a drought and heat tolerance test in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of the Faculty of Agriculture, Kyushu University, 40*(1), 233-240.

Al-Shorafa, W., Mahadeen, A., & Al-Absi, K. (2014). Evaluation for salt stress tolerance in two strawberry cultivars. *Am. J. Agric. Biol. Sci, 9*(3), 334-341.

Ali, Q., Ashraf, M., Shahbaz, M., & Humera, H. (2008). Ameliorating effect of foliar applied proline on nutrient uptake in water stressed maize (*Zea mays* L.) plants. *Pak. J. Bot, 40*(1), 211-219.

Aly, A. A., & Latif, H. H. (2011). Differential effects of paclobutrazol on water stress alleviation through electrolyte leakage, phytohormones, reduced glutathione and lipid peroxidation in some wheat genotypes (*Triticum aestivum* L.) grown *in-vitro*. *Rom Biotech Lett, 6*, 6710-6721.

Amini, F., & Ehsanpour, A. A. (2005). Soluble proteins, proline, carbohydrates and Na?/K? changes in two tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars under in vitro salt stress. *Am J Biochem Biotechnol, 1*(4), 204-208.

Anderson, N. O. (2006). *Flower breeding and genetics: issues, challenges and opportunities for the 21st century*: Springer Science & Business Media.

Armengaud, P., Thiery, L., Buhot, N., Grenier‐de March, G., & Savouré, A. (2004). Transcriptional regulation of proline biosynthesis in *Medicago truncatula* reveals developmental and environmental specific features. *Physiologia Plantarum, 120*(3), 442-450.

Baker, M. L., & Baker, C. O. (1996). *Orchid species culture: Dendrobium*: Timber Press.

Bandurska, H. (2000). Does proline accumulated in leaves of water deficit stressed barley plants confine cell membrane injury? I. Free proline accumulation and membrane injury index in drought and osmotically stressed plants. *Acta Physiologiae Plantarum, 22*(4), 409-415.

Baninasab, B., & Ghobadi, C. (2011). Influence of paclobutrazol and application methods on high-temperature stress injury in cucumber seedlings. *Journal of*

Plant Growth Regulation, 30(2), 213-219.

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 Anal. Fert. Probl, 4*, 25-45.

Boggess, S. F., Stewart, C. R., Aspinall, D., & Paleg, L. G. (1976). Effect of water stress on proline synthesis from radioactive precursors. *Plant Physiology, 58*(3), 398-401.

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

Chai, M. F., Wei, P. C., Chen, Q. J., An, R., Chen, J., Yang, S., & Wang, X. C. (2006). NADK3, a novel cytoplasmic source of NADPH, is required under conditions of oxidative stress and modulates abscisic acid responses in Arabidopsis. *The Plant Journal, 47*(5), 665-674.

Chandler, P. M., & Robertson, M. (1994). Gene expression regulated by abscisic acid and its relation to stress tolerance. *Annual review of plant biology, 45*(1), 113-141.

Da Silva, J. A. T. (2015). Sensitivity of hybrid *Cymbidium* to salt stress and induction of mild NaCl stress tolerance.

Davis, T. D., Steffens, G. L., & Sankhla, N. (1988). Triazole plant growth regulators.

De, L., & Deb, P. (2016). Growth and developmental aspects in *Dendrobium* orchid International. *Journal of Current Research, 8*(1), 20-22.

De, L., Rao, A., Rajeeva, P., & Srivastava, M. (2015). Morphological characterization in *Dendrobium* species. *J. Biosci, 4*(1), 1198-1215.

Deivanai, S., Xavier, R., Vinod, V., Timalata, K., & Lim, O. (2011). Role of exogenous proline in ameliorating salt stress at early stage in two rice cultivars. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry, 7*(4).

Ehsanpour, A., & Fatahian, N. (2003). Effects of salt and proline on *Medicago sativa* callus. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 73*(1), 53-56.

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

Fletcher, R. A., Gilley, A., Sankhla, N., & Davis, T. D. (2000). Triazoles as plant growth regulators and stress protectants. *Horticultural reviews, 24*, 55-138.

Flowers, T., Hajibagherp, M., & Yeo, A. (1991). Ion accumulation in the cell walls of rice plants growing under saline conditions: evidence for the Oertli hypothesis. *Plant, Cell & Environment, 14*(3), 319-325.

Flowers, T. J., & Colmer, T. D. (2008). Salinity tolerance in halophytes. *New Phytologist*,

945-963.

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.

Gopi, R., Jaleel, C. A., Sairam, R., Lakshmanan, G., Gomathinayagam, M., & Panneerselvam, R. (2007). Differential effects of hexaconazole and paclobutrazol on biomass, electrolyte leakage, lipid peroxidation and antioxidant potential of *Daucus carota* L. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 60*(2), 180-186.

Hajihashemi, S., Kiarostami, K., Saboora, A., & Enteshari, S. (2007). Exogenously applied paclobutrazol modulates growth in salt-stressed wheat plants. *Plant Growth Regulation, 53*(2), 117-128.

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., & Almansa, M. S. (2002). Short‐term effects of salt stress on antioxidant systems and leaf water relations of pea leaves. *Physiologia Plantarum, 115*(2), 251-257.

HongBo, S., ZongSuo, L., & MingAn, S. (2005). Changes of anti-oxidative enzymes and MDA content under soil water deficits among 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at maturation stage. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 45*(1), 7-13.

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.

Jaleel, C. A., Gopi, R., & Panneerselvam, R. (2008). Growth and photosynthetic pigments responses of two varieties of *Catharanthus roseus* to triadimefon treatment. *Comptes Rendus Biologies, 331*(4), 272-277.

Jaleel, C. A., Manivannan, P., Sankar, B., Kishorekumar, A., Sankari, S., & Panneerselvam, R. (2007). Paclobutrazol enhances photosynthesis and ajmalicine production in *Catharanthus roseus*. *Process Biochemistry, 42*(11), 1566-1570.

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.

Jenks, M. A., Andersen, L., Teusink, R. S., & Williams, M. H. (2001). Leaf cuticular waxes of potted rose cultivars as affected by plant development, drought and paclobutrazol treatments. *Physiologia Plantarum, 112*(1), 62-70.

Kozlowsik, T. T. (1968). *Water deficits and plant groeth voloum 2: Plant water consumtion and response*. New York: Academic Press.

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.

Marshall, J., Scarratt, J., & Dumbroff, E. (1991). Induction of drought resistance by abscisic acid and paclobutrazol in jack pine. *Tree physiology, 8*(4), 415-421.

Medeiros, L., Jaislanny, M., Medeiros De A SILVA, M., Granja, C., Maria, M., De SOUZA E SILVA JÚNIOR, G., . . . Willadino, L. (2015). Effect of exogenous proline in two sugarcane genotypes grown *in vitro* under salt stress. *Acta Biológica Colombiana, 20*(2), 57-63.

Meloni, D. A., Oliva, M. A., Martinez, C. A., & Cambraia, J. (2003). Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Environmental and Experimental Botany, 49*(1), 69-76.

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

Muchate, N. S., Nikalje, G. C., Rajurkar, N. S., Suprasanna, P., & Nikam, T. D. (2016). Plant salt stress: adaptive responses, tolerance mechanism and bioengineering for salt tolerance. *The Botanical Review, 82*(4), 371-406.

Niu, X., Bressan, R. A., Hasegawa, P. M., & Pardo, J. M. (1995). Ion homeostasis in NaCl stress environments. *Plant Physiology, 109*(3), 735.

Özmen, A., Özdemír, F., & Türkan, I. (2003). Effects of paclobutrazol on response of two barley cultivars to salt stress. *Biologia Plantarum, 46*(2), 263-268.

Parvin, S., Javadi, T., & Ghaderi, N. (2015). Proline, protein, RWC and MSI contents affected by paclobutrazol and water deficit treatments in strawberry cv. Paros. *Cercetari Agronomice in Moldova, 48*(1), 107-114.

Rademacher, W. (1997). *Bioregulation in crop plants with inhibitors of gibberellin biosynthesis.* Paper presented at the PROCEEDINGS-PLANT GROWTH REGULATION SOCIETY OF AMERICA-ANNUAL MEETING-.

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.

Roosens, N. H., Thu, T. T., Iskandar, H. M., & Jacobs, M. (1998). Isolation of the ornithine-δ-aminotransferase cDNA and effect of salt stress on its expression in Arabidopsis thaliana. *Plant Physiology, 117*(1), 263-271.

Roy, D., Basu, N., Bhunia, A., & Banerjee, S. (1993). Counteraction of exogenous L-proline with NaCl in salt-sensitive cultivar of rice. *Biologia Plantarum, 35*(1), 69.

Sairam, R., Srivastava, G., Agarwal, S., & Meena, R. (2005). Differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. *Biologia Plantarum, 49*(1), 85.

Sekhar, P. N., Amrutha, R. N., Sangam, S., Verma, D., & Kishor, P. K. (2007). Biochemical characterization, homology modeling and docking studies of ornithine δ-aminotransferase—an important enzyme in proline biosynthesis of plants. *Journal of Molecular Graphics and Modelling, 26*(4), 709-719.

Sharma, D. K., Dubey, A., Srivastav, M., Singh, A., Sairam, R., Pandey, R., . . . Kaur, C. (2011). Effect of putrescine and paclobutrazol on growth, physiochemical parameters, and nutrient acquisition of salt-sensitive citrus rootstock Karna khatta (*Citrus karna* Raf.) under NaCl stress. *Journal of Plant Growth Regulation, 30*(3), 301-311.

Sharma, P., & Dubey, R. S. (2005). Lead toxicity in plants. *Brazilian journal of plant physiology, 17*(1), 35-52.

Sinoda, K., Suto, K., Hara, M., & Aoki, M. (1988). Effect of day and night temperature on the flowering of Dendrobium nobile-type cultivars. *Bulletin of the National Research Institute of Vegetables, Ornamental Plants and Tea. Series A.*

Sopher, C. R., Król, M., Huner, N. P., Moore, A. E., & Fletcher, R. A. (1999). Chloroplastic changes associated with paclobutrazol-induced stress protection in maize seedlings. *Canadian journal of botany, 77*(2), 279-290.

Soumya, P. (2014). *Role of paclobutrazol in amelioration of water deficit stress in chickpea (Cicer arietinum L.).* DIVISION OF PLANT PHYSIOLOGY INDIAN AGRICULTURAL RESEARCH INSTITUTE NEW DELHI-.

Sreedhar, V. (1991). Proline accumulation and reduced transpiration in the leaves of triazole treated mulberry plant. *Indian Bot Report, 10*, 1-5.

Steffens, G., Lin, J., Stafford, A., Metzger, J., & Hazebroek, J. (1992). Gibberellin content of immature apple seeds from paclobutrazol-treated trees over three seasons. *Journal of Plant Growth Regulation, 11*(3), 165.

Szabados, L., & Savoure, A. (2010). Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in plant science, 15*(2), 89-97.

Teh, C. Y., Mahmood, M., Shaharuddin, N. A., & Ho, C. L. (2015). In vitro rice shoot apices

as simple model to study the effect of NaCl and the potential of exogenous proline and glutathione in mitigating salinity stress. *Plant Growth Regulation, 75*(3), 771-781.

Tsegaw, T., Hammes, S., & Robbertse, J. (2005). Paclobutrazol-induced leaf, stem, and root anatomical modifications in potato. *HortScience, 40*(5), 1343-1346.

United States Salinity Laboratory Staff. (1954). Diagnosis and improvement of Saline and Alkaline Soils. Retrieved 7 December 2017 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.

Watanabe, S., Kojima, K., Ide, Y., & Sasaki, S. (2000). Effects of saline and osmotic stress on proline and sugar accumulation in *Populus euphratica in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 63*(3), 199.

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*.

Xue, Y., & Liu, Z. P. (2008). Antioxidant enzymes and physiological characteristics in two Jerusalem artichoke cultivars under salt stress. *Russian Journal of Plant Physiology, 55*(6), 776-781.

Xue, X., Liu, A., & Hua, X. (2009). Proline accumulation and transcriptional regulation of proline biothesynthesis and degradation in *Brassica napus*. *BMB reports, 42*(1), 28-34.

Yasar, F., Ellialtioglu, S., & Yildiz, K. (2008). Effect of salt stress on antioxidant defense systems, lipid peroxidation, and chlorophyll content in green bean. *Russian Journal of Plant Physiology, 55*(6), 782.

Zhou, W., & Xi, H. (1993). Effects of mixtalol and paclobutrazol on photosynthesis and yield of rape (*Brassica napus*). *Journal of Plant Growth Regulation, 12*(3), 157-161.

Zhu, J.-K. (2003). Regulation of ion homeostasis under salt stress. *Current opinion in plant biology, 6*(5), 441-445.

Zhu, J. K. (2007). *Plant Salt Stress*. Chichester: John Wiley and Sons.

กรมวิชาการเกษตร. (2555). ยุทธศาสตร์การพัฒนางานวิจัยกล้วยไม้. Retrieved 7 ธันวาคม พ.ศ. 2559 http://www.doa.go.th/hortold/images/stories/strategyplanthort/strategyorchid.doc

ชุติมา โฮมวงศ์ และ กัลยา กองเงิน. (2557). การเปลี่ยนแปลงชีวเคมีบางประการของข้าวภายใต้สภาวะเครียดเกลือ. Paper presented at the Graduate research conference.

ทวีพงศ์ สุวรรณโณ. (2551). คู่มือนักวิชาการส่งเสริมการเกษตร กล้วยไม้ตัดดอกสกุลหวาย สำนัก

ส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร. Retrieved 7 ธันวาคม พ.ศ. 2560 http://ag-ebook.lib.ku.ac.th/ebooks/item.php?id=2011-005-0138

ธาราทิพย์ สอดสุข พัชรียา บุญกอแก้ว พูนพิภพ เกษมทรัพย์ และประเดิม วณิชชนานันท์. (2551). ผลกระทบจากความเค็มของน้ำต่อการเจริญเติบโตและอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงในรอบวันของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์เอียสกุล. http://www.lib.ku.ac.th/KUCONF/2558/KC5201016.pdf

นิยมรัฐ ไตรศรี. (2542). โรคของกล้วยไม้และการป้องกันกำจัด. กรุงเทพฯ: กลุ่มงานวิจัยโรคพืช ไม้ดอกและไม้ประดับ. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.

นิศาชล แจ้งพรมา ประสิทธิ์ ใจศิล พัชริน ส่งศรี ประสาน สวัสดิ์ชิตัง ศักดา ดาดวง และ สมปอง ธรรมศิริรักษ์. (2555). การประเมินการรั่วไหลของสารอิเล็กทรอไลต์และระดับมาลอนไดอัลดิไฮล์ของใบอ้อย 10 สายพันธุ์ภายใต้สภาวะขาดน้ำ *แก่นนคร, 40*(3), 74-82.

พัชรียา บุญกอแก้ว. (2553). บัญชีรายการทรัพย์สินชีวภาพ: กล้วยไม้ไทย: สำนักงานพัฒนาเศรษฐกิจจากฐานชีวภาพ (องค์การมหาชน).

วิชิตพล มีแก้ว ณัฐพล ขันธปราบ และสุรศักดิ์ ละลอกน้ำ. (2553). การปรับตัวของพืชภายใต้ภาวะที่มีความเค็ม. ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์. *ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์, 10*(2), 28-37.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2555). สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี *2555*. กรุงเทพฯ.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2557). การศึกษาเปรียบเทียบการผลิตกล้วยไม้. Retrieved 7 ธันวาคม พ.ศ. 2560 http://www.oae.go.th/download/research/2557/Study_of_Orchids57.pdf

สำนักส่งเสริมการค้าสินค้าเกษตรและอุตสาหกรรมกรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ. (2560). สินค้ากล้วยไม้. Retrieved 7 ธันวาคม พ.ศ. 2560 http://www.ditp.go.th/contents_attach/165775/165775.pdf

สิทธิ์ ดนัยพิริยะ. (2513). สรุปคำบรรยายการอบรมวิชา หลักการเพาะปลูกกล้วยไม้ของสมาคมกล้วยไม้แห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ประยูรวงศ์.

สุเทพ รักจิตร. (2544). การวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลกระทบต่ออุปทานและอุปสงค์ส่งออกกล้วยไม้ตัดดอกของประเทศไทยไปประเทศญี่ปุ่น Retrieved 31 ตุลาคม พ.ศ. 2560 https://books.google.co.th/books/about/การวิเคราะห์. html?id=HpE8ngEACAAJ&redir_esc=y

สุมาลี คงสอดทรัพย์ และวัฒนา พัฒนากูล. (2555). ผลของการแช่เมล็ดในกรดแอบซิสิกและพาโคลบิวทาโซลต่ออัตราการงอกและการเจริญเติบโตของข้าว (*Oryza sativa* L.) ในสภาวะแล้ง. Retrieved 15 ธันวาคม 2559 https://gsbooks.gs.kku.ac.th/55/cdgrc13/files/bmo1.pdf

สุมาลี ชูกำแพง. (2555). พืชในสภาวะเครียดเกลือ. วารสารพฤกษศาสตร์ไทย, *4*(1), 15-24.

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 (เตรียมโดยค่อยๆ หยดสารละลาย 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 การแปลงหน่วยระดับความเค็ม (The Australian wine research institute, 2010)

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

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก 4 วิธีการวิเคราะห์ลักษณะทางสรีระวิทยาของพืช

4.1 การวิเคราะห์ปริมาณโพรลีน (Estimation of proline) โดยวิธีของ Bates et al., 1973

1. ชั่งต้นกล้วยไม้ 0.125 กรัม

2. บดกับ 3% sulfosalicylic acid 2.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 (whatman #1)

4. นำสารละลายส่วนใส 2 มิลลิลิตร เติม acid ninhydrin และ glacial acetic acid 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

5. ให้ความร้อนแก่สารละลายที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

6. หยุดปฏิกิริยาในอ่างน้ำแข็ง 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

7. เติม tuloene 3 ml ลง reaction mixture เขย่า 15-20 วินาที

8. ดูดสารละลายส่วนบนไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer 520 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง UV-VIS spectrophotometer รุ่น Optizen 3220UV โดยมี tuloene เป็น blank

9. คำนวณหาปริมาณโพรลีนในรูปมิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสดของตัวอย่างกล้วยไม้ ซึ่งมีหน่วยเป็น mg/g FW โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน proline

4.1.1 วิธีการเตรียมสารละลายโพรลีนมาตรฐานและคำนวณปริมาณโพรลีนในรูปมิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสดของตัวอย่างกล้วยไม้

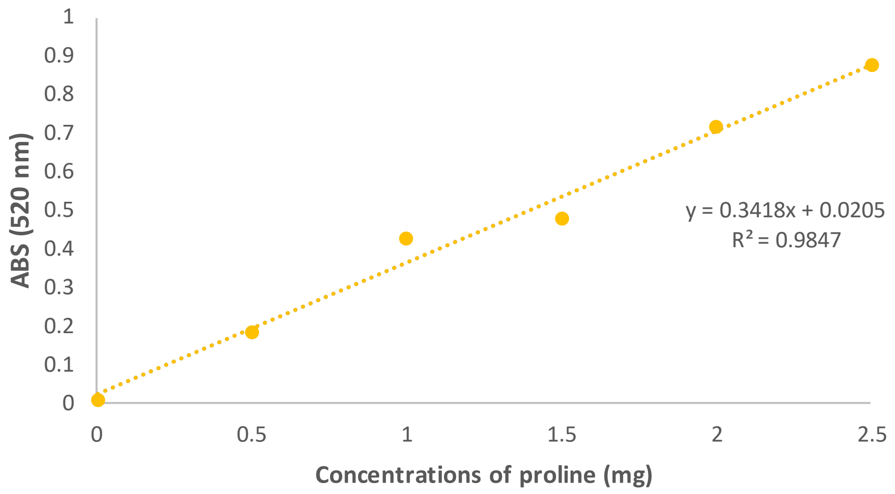
1) การเตรียมสารละลายโพรลีนมาตรฐาน (L-proline, $C_5H_9NO_2$, MW=115.13 g/mol)

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 4.1-1 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 4.1-2 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=0.3418x + 0.0205 ได้ค่า x หน่วย mg/ml โดยปริมาณโพรลีนในรูปมิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสดของตัวอย่างกล้วยไม้ = (x*ปริมาตรของสารสกัด หน่วย ml)/น้ำหนักสดของตัวอย่าง (g) = (x*1)/0.025 หน่วย mg/g FW

มหาวิทยาลัยศิลปากร

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล (Solution sugar content) โดยวิธีของ Roberts et al., 1959

1. ชั่งต้นกล้วยไม้หนัก 0.125 กรัม บดให้ละเอียดด้วยน้ำเปล่า 2.5 มิลลิลิตร
2. ปั่นเหวี่ยง 12,000 g เป็นเวลา ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
3. นำสารละลายส่วนใส 1 มิลลิลิตร มาเติม 5% phenol 1 มิลลิลิตร และ sulfuric acid 3 มิลลิลิตร และเขย่าให้เข้ากัน
4. ทิ้งไว้ในที่มืด 1 ชั่วโมง
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง UV-VIS spectrophotometer รุ่น Optizen 3220UV ที่ความยาวคลื่น 485 นาโนเมตร
6. นำไปคำนวณปริมาณน้ำตาลละลายน้ำทั้งหมดในรูปมิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสดของตัวอย่างกล้วยไม้ ซึ่งมีหน่วยเป็น mg/g FW โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

4.2.1 วิธีการเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานและคำนวณปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ในรูปมิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสดของตัวอย่างกล้วยไม้

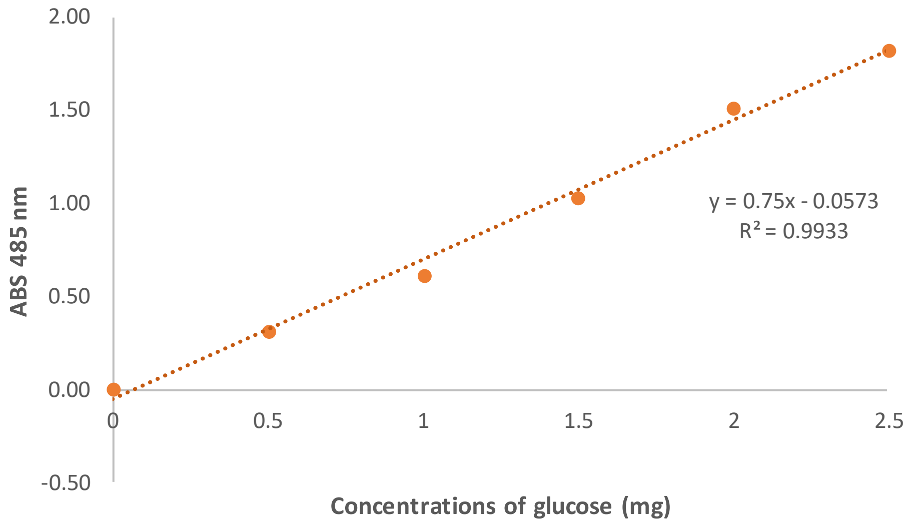
1) สารละลายกลูโคสมาตรฐาน (glucose, $C_6H_{12}O_6$, MW=180.156 g/mol)

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 4.2-1 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 4.2-2 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/g FW

4.3 การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ (Electrolyte Leakage; EL) โดยวิธีการของ Mao et al. (2007)

1. ตัดชิ้นส่วนของต้นกล้วยไม้ 1 กรัม ให้มีความยาว ประมาณ 0.5 เซนติเมตร
2. นำแช่ลงในน้ำกลั่นที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และนำวัดค่าการนำไฟฟ้า (EC_1) ด้วยเครื่อง conductivity meter
3. นำชิ้นส่วนต้นกล้วยไม้ที่แช่ในน้ำกลั่นไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น และนำไปวัดค่าการนำไฟฟ้า (EC_2)
4. นำค่าการนำไฟฟ้าที่วัดได้ไปแทนค่าในสมการ ตามวิธีการของ Dionisio-Sese and Tobita (1998) จากสมการ $EL = (EC_1/EC_2) * 100$

4.4 การวิเคราะห์ปริมาณ Malondialdehyde (MDA content)

โดยวิธีของ Vyncke (1970) และ Heath and Packer, 1968

1. นำต้นกล้วยไม้ 0.3 กรัม บดใน 5% (v/w) tricloroacetic acid 1.5 มิลลิลิตร
2. ปั่นเหวี่ยง 15,000 g เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
3. นำสารละลายส่วนใส 1 มิลลิลิตร มาเติม 0.5% thiobarbituric acid 3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
4. นำสารละลายไปต้มในน้ำเดือด 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที
5. ปั่นเหวี่ยง 15000 g เป็นเวลา 5 นาที
6. นำสารละลายส่วนใสไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง UV-VIS spectrophotometer รุ่น Optizen 3220UV
7. นำค่าที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายมาลอนไดอัลดีไฮด์มาตรฐาน (MDA) คำนวณปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ในรูปมิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสดของตัวอย่างกล้วยไม้ ซึ่งมีหน่วยเป็น mg/g FW

4.4.1 วิธีการเตรียมสารละลายมาลอนไดอัลดีไฮด์มาตรฐานและคำนวณปริมาณ MDA ในรูปมิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสดของตัวอย่างกล้วยไม้

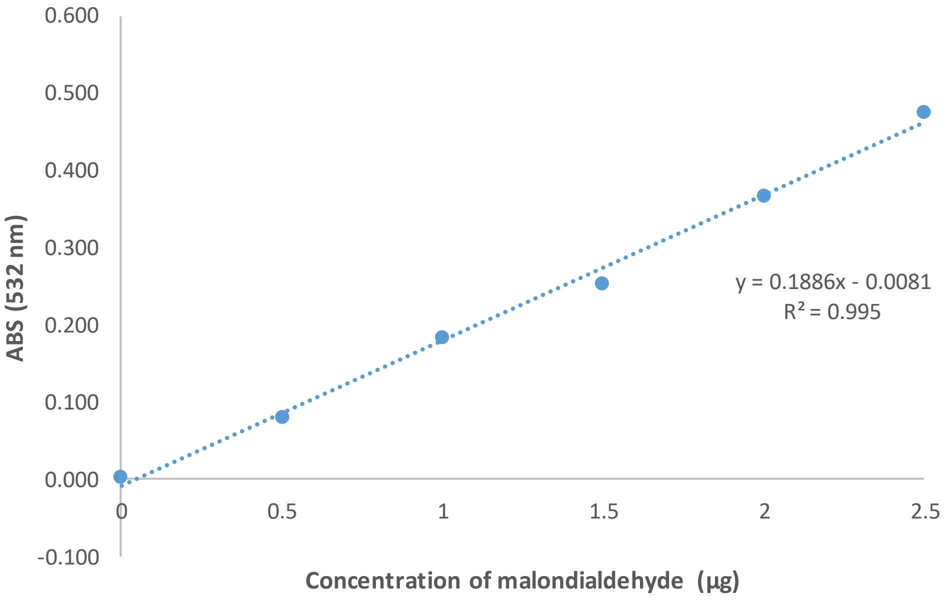
1) สารละลาย MDA มาตรฐานเตรียมจาก 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP, $C_{11}H_{24}O_4$, MW=220.31)

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 4.4-1 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 4.4-2 กราฟมาตรฐาน MDA

3) คำนวณปริมาณมาลอน 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 ในสมการกราฟมาตรฐานMDA 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/g FW

4.5 การสกัด total protein ออกจากพืช

1. นำต้นกล้วยไม้ 0.2 กรัมบดกับ 50 มิลลิโมลาร์ phosphate buffer (pH 7.0) 1 มิลลิลิตร ที่มี polyvinylpyrrolidone 1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ที่ 4 องศาเซลเซียส
2. ปั่นเหวี่ยงที่ 15,000 g เป็นเวลา 10 นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส
3. นำสารละลายส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณเอนไซม์

4.5.1 วิธีการเตรียมสารโปรตีนมาตรฐานและคำนวณกิจกรรมปริมาณโปรตีนในรูปมิลลิกรัมโปรตีน

1) สารละลายโปรตีนมาตรฐาน

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

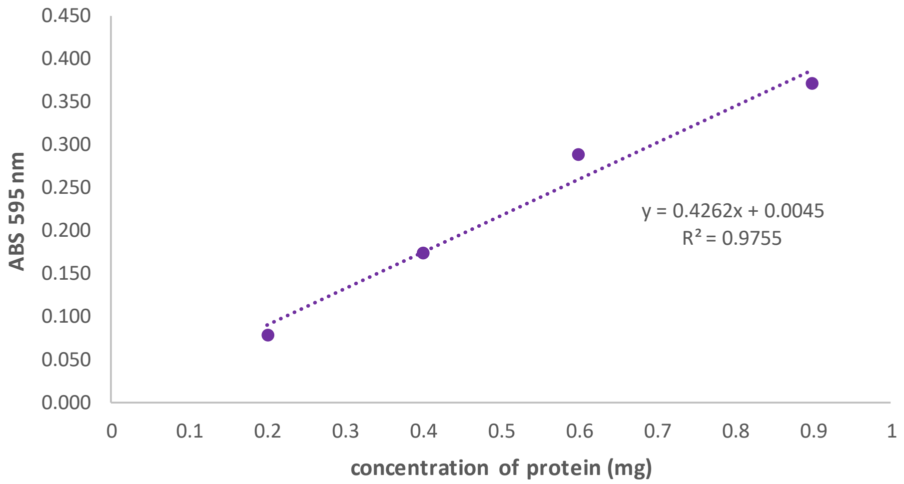
ภาคผนวก 4.5-1 ตารางการเตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐาน

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



ภาคผนวก4.5-2 กราฟมาตรฐานโปรตีน

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

4.6 การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ SOD

วิเคราะห์กิจกรรมของ SOD โดยวัดประสิทธิภาพในการยับยั้งปฏิกิริยา photochemical reduction ของ nitro blue tetrazolium (NBT) (Dhindsa et al. 1981)

ปริมาณ SOD (ไมโครกรัม) จะแปรผันตรงกับ (V/v) - 1 (Asada et al., 1974; Beyer and Fridovich, 1987)

โดย V = ค่า absorbance ของปฏิกิริยาที่ไม่มี SOD /เวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยา

v = ค่า absorbance ของปฏิกิริยาที่เติม SOD /เวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยา

1. การวิเคราะห์ปริมาณ SOD สามารถหาได้จาก reaction mixture ที่ประกอบด้วย
   - Phosphate buffer (pH 7.8) 50 มิลลิโมลาร์
   - Methionine 13 มิลลิโมลาร์
   - NBT 75 ไมโครโมลาร์
   - Riboflavin 2 ไมโครโมลาร์
   - EDTA 0.1 มิลลิโมลาร์
   - สารละลายส่วนใสจากสารสกัด

   โดยเติม riboflavin เป็นตัวสุดท้ายเขย่าให้เข้ากัน
2. เริ่มปฏิกิริยาด้วยการนำไปส่องด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ 15 วัตต์ 2 หลอดห่างกัน 30 เซนติเมตร เป็นเวลา 10 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วยการปิดไฟแล้วคลุมหลอดด้วยผ้าสีดำ

3. นำสารละลายสีน้ำเงินที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง UV-VIS spectrophotometer รุ่น Optizen 3220UV

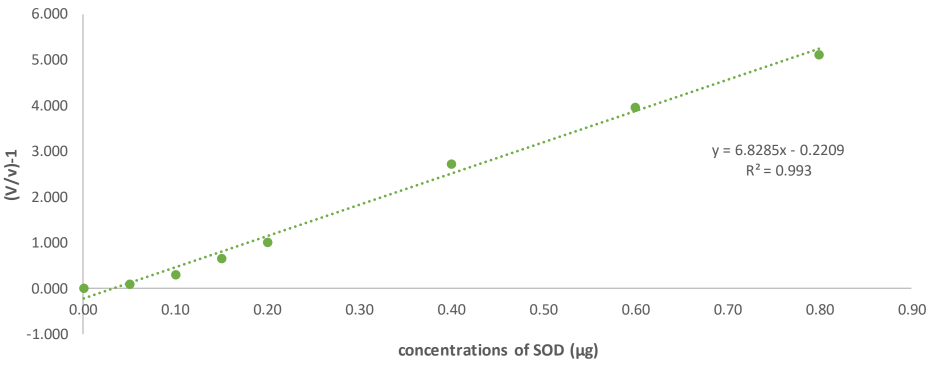
4.6.1 วิธีการเตรียมสารเอนไซม์ SOD มาตรฐาน และคำนวนกิจกรรมของเอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสในรูปยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

1. สารละลาย SOD มาตรฐานเตรียมจาก Superoxide Dismutase from bovine erythrocytes 1 µg/ml โดยเตรียมที่ความเข้มข้น 0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8 µg โดยใช้สูตร $C_1V_1= C_2V_2$

ภาคผนวก 4.6-1 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 4.6-2 กราฟมาตรฐาน SOD

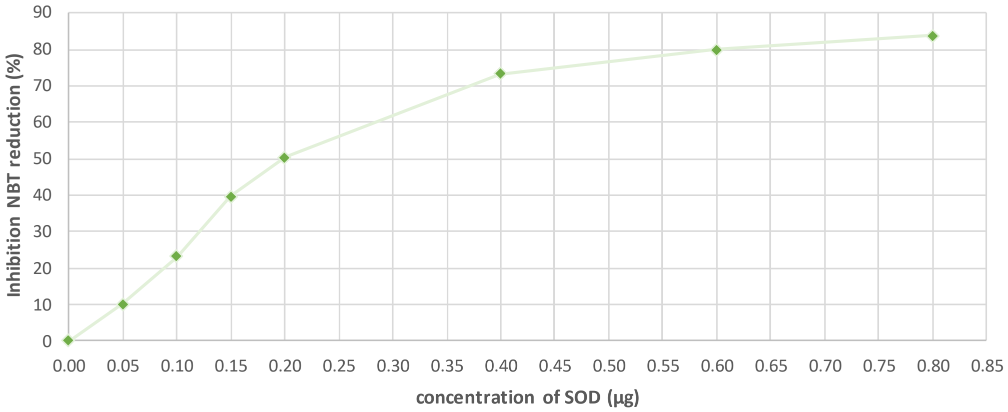
3. คำนวณปริมาณเอนไซม์ SOD ของตัวอย่างกล้วยไม้

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 y = 6.8285x - 0.2209 ได้ค่า x หน่วย μg SOD



ภาคผนวก 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

4.7 การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ CAT โดยวิธีการของ Jamec (2007) และ Aebi (1984)

1. นำสารละลายส่วนใสของสารสกัดโปรตีนทั้งหมดปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย phosphate buffer (pH 7.0) 50 มิลลิโมลาร์ เติมสารละลาย Hydrogen peroxide ความเข้มข้น 15 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร
2. เติมสารละลาย H_2O_2 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันทันที
3. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 240 nm ทันทีในโหมด time scan เป็นเวลา 4 นาที โดยใช้เครื่อง UV-VIS spectrophotometer รุ่น Optizen 3220UV light path (b) 1 เซนติเมตร
4. นำค่าความแตกต่างของการดูดกลืนแสงมาคำนวณโมลของ H_2O_2 ที่ถูกใช้ไปในการทำปฏิกิริยา (c) จากสมการ c = ΔA240 (nm)/εb โดยกำหนดค่า Extinction coefficient, ε = 43.6 โมล$^{-1}$ เซนติเมตร$^{-1}$ หน่วยเป็นโมลต่อลิตร คำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์ CAT ในรูปไมโครโมลต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อนาที ซึ่งมีหน่วยเป็น µmol/mg Protein/min จากสมการ CAT activity = c/time (min)*mg Protein

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก 5 ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางสรีระวิทยา

ภาคผนวก 5-1 ตารางแสดงปริมาณโพรลีน (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด) ที่สะสมภายในต้นกล้วยไม้เมื่อได้ความเครียดเกลือ

ทรีตเมนต์		**ปริมาณโพรลีน (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด)**
3 weeks	Control	24.18±0.31[i]
	NaCl (u)	74.12±1.15[h]
	NaCl (b)	72.47±1.66[h]
	proline (u)	110.63±5.15[e]
	proline (b)	126.62±0.27[d]
	PBZ (u)	88.55±1.91[g]
	PBZ (b)	99.55±0.48[f]
7 weeks	Control	26.82±0.53[i]
	NaCl (u)	99.60±0.63[f]
	NaCl (b)	96.73±0.78[f]
	proline (u)	149.91±0.34[b]
	proline (b)	181.99±1.09[a]
	PBZ (u)	106.05±1.48[e]
	PBZ (b)	135.07±0.79[c]

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก 5-2 ตารางแสดงปริมาณน้ำตาล (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด) ที่สะสมภายในต้นกล้วยไม้เมื่อได้ความเครียดเกลือ

ทรีตเมนต์		**ปริมาณน้ำตาล (มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด)**
3 weeks	control	87.41±0.52[i]
	NaCl (u)	99.20±2.15[gh]
	NaCl (b)	96.45±2.02[h]
	proline (u)	113.20±2.39[f]
	proline (b)	122.01±3.82[e]
	PBZ (u)	150.90±0.40[d]
	PBZ (b)	159.28±2.85[c]
7 weeks	control	104.47±3.46[g]
	NaCl (u)	119.61±0.25[e]
	NaCl (b)	121.41±2.45[e]
	proline (u)	152.85±1.39[d]
	proline (b)	164.53±1.16[c]
	PBZ (u)	197.92±0.40[b]
	PBZ (b)	219.03±3.08[a]

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก 5-3 ตารางแสดงปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ (%) เมื่อต้นกล้วยไม้เมื่อได้ความเครียดเกลือ

ทรีตเมนต์		ปริมาณการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ (%)
3 weeks	control	5.66 ± 0.40^{f}
	NaCl (u)	18.00 ± 0.70^{bc}
	NaCl (b)	19.46 ± 0.58^{b}
	proline (u)	10.25 ± 0.25^{e}
	proline (b)	9.62 ± 0.21^{e}
	PBZ (u)	9.54 ± 0.45^{e}
	PBZ (b)	8.83 ± 0.56^{e}
7 weeks	control	6.51 ± 0.31^{f}
	NaCl (u)	24.93 ± 0.42^{a}
	NaCl (b)	25.65 ± 1.68^{a}
	proline (u)	17.37 ± 0.59^{cd}
	proline (b)	16.65 ± 0.25^{cd}
	PBZ (u)	18.47 ± 0.25^{bc}
	PBZ (b)	15.81 ± 0.28^{d}

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก 5-4 ตารางแสดงปริมาณ MDA (ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด) ที่สะสมภายในต้นกล้วยไม้เมื่อได้ความเครียดเกลือ

ทรีตเมนต์		**ปริมาณ MDA (ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด)**
3 weeks	Control	0.268 ± 0.014^{g}
	NaCl (u)	1.183 ± 0.013^{b}
	NaCl (b)	1.211 ± 0.048^{b}
	proline (u)	0.645 ± 0.025^{e}
	proline (b)	0.603 ± 0.013^{e}
	PBZ (u)	0.622 ± 0.030^{e}
	PBZ (b)	0.575 ± 0.018^{e}
7 weeks	Control	0.470 ± 0.014^{f}
	NaCl (u)	2.427 ± 0.057^{a}
	NaCl (b)	2.461 ± 0.162^{a}
	proline (u)	1.019 ± 0.036^{c}
	proline (b)	1.007 ± 0.028^{c}
	PBZ (u)	0.983 ± 0.042^{c}
	PBZ (b)	0.851 ± 0.025^{d}

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก 5-5 ตารางแสดงการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ SOD (ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน) ของต้นกล้วยไม้เมื่อได้ความเครียดเกลือ

ทรีตเมนต์		**กิจกรรมของเอนไซม์ SOD (ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน)**
3 weeks	control	1.14±0.01[i]
	NaCl (u)	1.79±0.01[h]
	NaCl (b)	1.84±0.11[fgh]
	Proline (u)	2.08±0.06[fg]
	Proliine (b)	2.20±0.00[f]
	PBZ (u)	2.61±0.17[e]
	PBZ (b)	2.70±0.04[de]
7 weeks	control	1.29±0.04[i]
	NaCl (u)	1.97±0.03[fgh]
	NaCl (b)	2.23±0.11[f]
	Proline (u)	2.99±0.09[bc]
	Proliine (b)	3.21±0.21[ab]
	PBZ (u)	2.92±0.06[cd]
	PBZ (b)	3.40±0.08[a]

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก 5-6 ตารางแสดงการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ CAT (ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที) ของต้นกล้วยไม้เมื่อได้ความเครียดเกลือ

ทรีตเมนต์		**กิจกรรมของเอนไซม์ CAT (ไมโครโมล/มิลลิกรัมโปรตีน/นาที)**
3 weeks	control	83.32±1.35[k]
	NaCl (u)	174.60±4.25[i]
	NaCl (b)	180.51±3.48[i]
	proline (u)	254.34±1.77[g]
	proline (b)	327.92±2.44[e]
	PBZ (u)	238.84±2.02[h]
	PBZ (b)	358.94±4.57[d]
7 weeks	control	111.01±7.84[j]
	NaCl (u)	306.42±1.73[f]
	NaCl (b)	327.07±4.57[e]
	proline (u)	491.74±13.85[c]
	proline (b)	551.34±3.39[b]
	PBZ (u)	482.72±2.55[c]
	PBZ (b)	585.40±10.75[a]

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก 6 จำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตในแต่ละสัปดาห์

ภาคผนวก 6-1 จำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตในแต่ละสัปดาห์ เมื่อได้รับความเครียดเกลือ NaCl ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ทรีตเมนต์	**สัปดาห์**									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Control	15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
NaCl 200 mM	15	15	15	15	15	14	14	14	14	14
NaCl 200 mM	15	15	13	9	9	6	6	6	6	6
NaCl 300 mM	15	10	5	3	1	1	1	1	1	1

ภาคผนวก 6-2 จำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตในแต่ละสัปดาห์ เมื่อได้รับโพรลีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 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
Proline 0 mM	10	10	7	5	5	5	3	2	2	2
Proline 1.25 mM	10	10	10	9	7	6	5	4	2	1
Proline 2.5 mM	10	10	10	10	10	10	9	6	5	4
Proline 5 mM	10	10	10	10	10	10	8	6	6	3
Proline 7.5 mM	10	10	9	7	7	6	5	4	4	1
Proline 10 mM	10	10	8	6	6	6	3	1	1	0

ภาคผนวก 6-3 จำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตในแต่ละสัปดาห์ เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซลที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 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
PBZ 0 μM	10	10	7	5	5	5	3	2	2	2
PBZ 1.7 μM	10	10	10	10	8	7	6	5	4	4
PBZ 3.4 μM	10	10	10	10	8	7	6	5	4	3
PBZ 6.8 μM	10	10	10	9	8	8	6	5	4	3
PBZ 13.6 μM	10	10	9	4	4	4	1	1	1	1
PBZ 27.2 μM	10	10	8	6	6	6	3	1	0	0

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก 6-4 จำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตในแต่ละสัปดาห์ เมื่อได้รับโพรลีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 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
Proline 0 mM	10	10	9	8	6	6	4	4	4	4
Proline 1.25 mM	10	10	10	10	10	9	8	8	6	6
Proline 2.5 mM	10	10	10	10	9	9	8	6	6	4
Proline 5 mM	10	10	10	10	10	10	8	8	8	8
Proline 7.5 mM	10	10	9	9	9	9	8	8	8	6
Proline 10 mM	10	10	9	8	7	6	6	5	5	4

ภาคผนวก 6-5 จำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตในแต่ละสัปดาห์ เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซลที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 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
PBZ 0 μM	10	10	9	8	6	6	4	4	4	4
PBZ 1.7 μM	10	10	10	10	10	9	8	7	5	2
PBZ 3.4 μM	10	10	10	10	8	7	7	6	6	6
PBZ 6.8 μM	10	10	10	10	10	9	8	8	8	6
PBZ 13.6 μM	10	10	10	10	9	8	8	6	5	3
PBZ 27.2 μM	10	10	10	9	8	6	6	5	5	5

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก 6-6 จำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตในแต่ละสัปดาห์ เมื่อได้รับโพรลีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 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
Proline 0 mM	9	7	5	1	0	0	0	0	0	0
Proline 1.25 mM	10	9	7	6	5	4	3	3	3	3
Proline 2.5 mM	10	8	6	4	3	1	1	1	1	1
Proline 5 mM	10	7	5	3	2	2	1	0	0	0
Proline 7.5 mM	10	8	7	4	3	2	2	1	1	1
Proline 10 mM	10	8	6	4	2	2	1	1	1	1

ภาคผนวก 6-7 จำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตในแต่ละสัปดาห์ เมื่อได้รับพาโคลบิวทราโซลที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 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
PBZ 0 µM	9	7	5	1	0	0	0	0	0	0
PBZ 1.7 µM	10	8	6	4	3	1	1	0	0	0
PBZ 3.4 µM	10	9	8	5	4	3	3	2	2	2
PBZ 6.8 µM	10	7	6	4	2	1	1	0	0	0
PBZ 13.6 µM	10	7	6	3	2	1	1	0	0	0
PBZ 27.2 µM	10	8	7	4	3	3	2	1	1	1

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาคผนวก 6-8 จำนวนต้นกล้วยไม้ที่รอดชีวิตในแต่ละสัปดาห์ เมื่อได้รับโพรลีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ 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
Proline 0 mM	9	7	6	1	0	0	0	0	0	0
Proline 1.25 mM	10	9	8	6	5	4	3	3	3	3
Proline 2.5 mM	10	8	6	4	3	1	1	0	0	0
Proline 5 mM	10	9	7	5	3	3	2	2	2	2
Proline 7.5 mM	10	9	8	5	3	3	2	2	2	2
Proline 10 mM	10	9	8	5	4	3	2	2	2	2

ภาคผนวก 6-9 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
PBZ 0 μM	9	7	6	1	0	0	0	0	0	0
PBZ 1.7 μM	10	9	8	5	4	3	2	2	2	2
PBZ 3.4 μM	10	8	7	4	3	3	2	2	1	1
PBZ 6.8 μM	10	8	6	4	3	3	2	2	1	1
PBZ 13.6 μM	10	8	6	4	3	2	2	2	1	1
PBZ 27.2 μM	10	8	7	5	4	3	3	2	2	2

มหาวิทยาลัยศิลปากร

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	อรพินท์ จูนีนารถ
วัน เดือน ปี เกิด	4 ธันวาคม 2537
สถานที่เกิด	ราชบุรี
วุฒิการศึกษา	2560 - ปัจจุบัน วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วท.ม.) ชีววิทยา มหาวิทยาลัยศิลปากร 2556 - 2559 วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.) ชีววิทยา มหาวิทยาลัยศิลปากร 2551 - 2555 โรงเรียนนารีวิทยา
ที่อยู่ปัจจุบัน	67 หมู่ 10 ตำบล หินกอง อำเภอเมือง จังหวัดราชบุรี 70000
ผลงานตีพิมพ์	ผลของโพรลีนต่อการเติบโตภายใต้สภาวะความเครียดเกลือของกล้วยไม้สกุลหวายโจแดงในหลอดทดลอง (Effects of proline on in vitro growth of Dendrobium Sonia ‘Red Jo’ under salt-stress condition) ในงานประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 11 มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม วันที่ 11 - 12 กรกฎาคม พ.ศ. 2562 ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม จ.นครปฐม

มหาวิทยาลัยศิลปากร