

อุปกรณ์และวิธีการ

วิธีแยก pure culture ของต้นไร้น้ำ

นำต้นไร้น้ำที่ร่อนมาจากใบไม้บริเวณจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มาล้างด้วยน้ำประปาหลาย ๆ ครั้ง แล้วล้างด้วยน้ำกลั่น ๓ - ๔ ครั้ง เพื่อล้างสารพิษและสิ่งอื่นที่ปะปนออกเสีย จากนั้นนำมาแช่ chlorox ๐.๕% เช้าอย่างแรงสัก ๑ นาที ทิ้งไว้ ๕ นาที เช้าเช็กนัยยเพื่อดูว่า แยกที่เรียบร้อยแล้ว และสารที่ยังเหลืออยู่ให้หมกแล้วปลูกใน Erlenmeyer flask ขนาด ๒๐๐ ml. ที่มี nutrient solution อยู่ ๕๐ ml เก็บไว้ในห้องที่มีอุณหภูมิระหว่าง ๒๒ - ๒๓°C ให้แสงประมาณ ๕๐๐ lux วันละ ๑๖ ชั่วโมง แสงที่ให้เป็นแสงจากหลอดไฟฟลูออโรเรสเซนต์ชนิด TLF /๓๓ ของบริษัทฟิออป จากวิธีดังกล่าวจะได้ stock ของต้นไร้น้ำที่เป็น pure culture เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

Nutrient solution ที่ใช้ปลูกต้นไร้น้ำในสูตรของ Hoagland (Hoagland & Terrey 1959) ซึ่งคัดแปลงตามความเหมาะสมดังนี้

Modified Hoagland's solution

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	0.005 M
KNO_3	0.005 M
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0.002 M
KH_2PO_4	0.001 M
Fe EDTA	มี Fe 5 mg./Litre

* Mitsch's minor elements solution 1. ml./Litre

pH 5.5

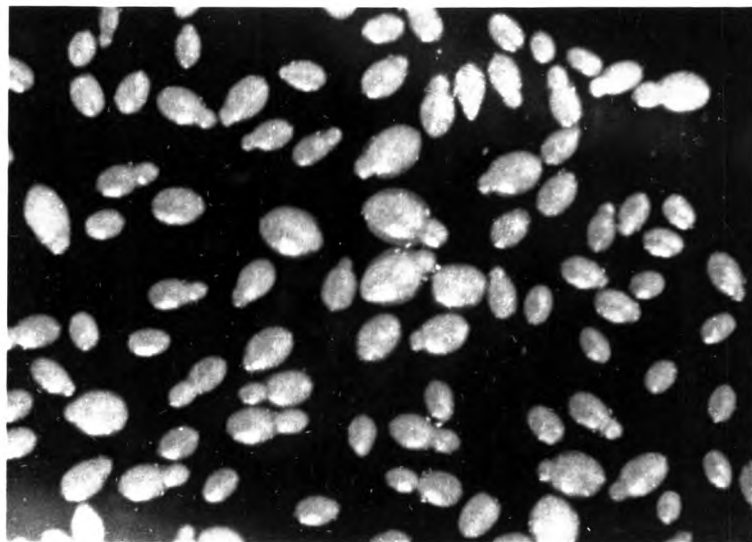
Nitsch's minor elements solution

$\text{K}_2\text{SO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	100 mg.
$\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	2000 mg.
H_3BO_3	1000 mg.
$\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	10 mg.
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	20 mg.
$\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	20 mg.
Distilled water	1000 ml.

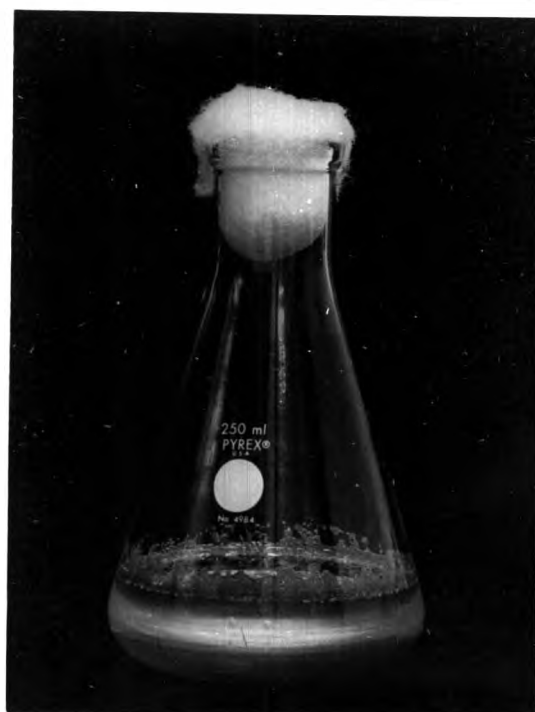
เมื่อได้ pure culture stock ของต้นไร้น้ำแล้วจึงนำไปทดลองเลี้ยงใน nutrient solution ที่มี growth regulator ชนิดต่างๆ และมีความเข้มข้นต่างกัน (ตั้งแนบลงในตารางผลการทดลอง)

Growth regulator ที่ใช้ในการทดลองมี ๕ ชนิด คือ

๑. Indoleacetic acid (IAA)
๒. Indolebutyric acid (IBA)
๓. Gibberellin (GA)
๔. Maleic hydrazide (MH)
๕. 2,4 - dichlorophenoxyacetic acid (2,4 - D)
๖. 2,4,5 - trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5 - T)
๗. Colchicine
๘. น้ำมะนาว
๙. น้ำมะเขือเทศ



รูปที่ ๑ ต้นไชน้ำ (Wolffia arrhiza Wimm.) ขยายประมาณ ๕๐ เท่า



รูปที่ ๒ Flask ที่ใช้เลี้ยงต้นไชน้ำ

การเตรียม stock solution ของ growth regulator

Solution ของ growth regulator แต่ละชนิดมีวิธีเตรียมต่างกัน ดังแสดง
ในตารางนี้

Growth regulator	น้ำหนัก mg.	solvent ละวิธีละลาย	Concentration ของ stock solution ppm
IAA	๓๐	ละลายใน ethyl alcohol ๔๕ % ml. แล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ ๑๐๐ ml.	๓๐๐
IBA	๓๐	ละลายใน ethyl alcohol ๔๕ % ml. แล้วเติมน้ำกลั่นจนได้ ๑๐๐ ml.	๓๐๐
GA	๕๐	ละลายในน้ำกลั่น ๑๐๐ ml.	๕๐๐
MH	๑๐๐	ผสมกับน้ำกลั่น ๑๐๐ml. นำไปทำไซรอน โดยใช้ความดัน ๑๔ lbs. ๓๐ นาที	๑๐๐๐
2,4 - D	๓๐	ผสมกับน้ำกลั่น ๓๐๐ml. นำไปต้มจน 2,4 - D ละลายหมด	๓๐๐
2,4,5 - T	๑๐	ละลายใน ethyl alcohol ๔๕ % ๑๐๐ ml.	๑๐๐
colchicine	๕๐๐	ละลายในน้ำกลั่น ๑๐๐ ml.	๕๐๐๐

น้ำมะพร้าว ไร่โตตั้งแต่มะพร้าวเริ่มเป็นลูก จะให้ยอดการเจริญของเนื้อใบ
เหมือนกัน (F.C.Steward personal communication)

น้ำมะเขือเทศ ใช้น้ำมะเขือเทศสุกจาก ก้นเตาแล้ว นำไปต้มกรองด้วยผ้าขาว
สะอาดจะได้น้ำมะเขือเทศใส

Nutrient solution ที่ใช้ในการทดลองนี้ sterilize โดยใช้ Autoclave ความดัน 15 lbs./inch^2 เป็นเวลา ๑๕ นาที

วิธีดำเนินการทดลอง

ใช้ loop เชียน้ำจาก stock ใส่ลงใน petridish ที่มีน้ำกลั่น ๒๖ ml. เพื่อให้น้ำกระจายออกสะดวกในการแยก แล้วจึงใช้ loop เชียน้ำจาก petridish โดยเลือกต้นที่มีขนาดเท่า ๆ กัน และยังไม่มีหน่อปลุกใน Erlenmeyer flask ขนาด ๑๐๐ ml. ซึ่งมีน้ำยา ๕๐ ml. ใช้คนน้ำ flask ละ ๑ คน เก็บไว้ในห้องเดียวกับ pure culture stock

loop ที่ใช้เชียน้ำก่อนใช้ชุบแอลกอฮอล์ ๑๕ วินาที และอบไฟในแห้งทุกครั้ง

การวิเคราะห์ผล

นับจำนวนต้นน้ำทุก ๆ ๑ วัน เป็นเวลา ๒๐ วัน (การนับนั้นนับต้นที่แตกออกมาใหม่ และหน่อใหม่ที่มีขนาดเท่า ๆ กับต้นเดิมด้วย) เมื่อครบตามเวลาแล้วจึงนำต้นน้ำมาทรงควยกระดาษกรอง แล้วอบในแห้งในตู้อบอุณหภูมิ 70°C ๑ วัน เพื่อหา dry weight ของแต่ละ treatment

จากผลที่ได้นำมาหาค่าเฉลี่ยเขียนกราฟระหว่างจำนวนต้นกับเวลาและเขียนแผนภูมิของ dry weight เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นน้ำใน nutrient solution ที่มี growth regulator ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน.