รายงานวิจัย

เรื่อง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้ตัดดอกประเภทหัวบางชนิด

โดย

สุเม อรัญนารถ

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

รายงานผลการวิจัยเสนอต่อสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

โครงการสนับสนุนงานวิจัยจากงบประมาณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง ปี พ.ศ. 2537

RCH
QK
795
ส8435
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....29786
วัน, เดือน, ปี 27 เม.ย 2541

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
ส่วนที่ 1 :	
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวหลวง	1
บทคัดย่อ	1
คำนำ	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	7
ผลการทดลองและวิธีการ	9
สรุปผลการทดลอง	13
เอกสารอ้างอิง	14
ส่วนที่ 2 :	
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเฮลิโคเนีย(กล้วยก้ามกุ้ง)	17
บทคัดย่อ	17
คำนำ	18
การตรวจเอกสาร	19
อุปกรณ์และวิธีการ	24
ผลการทดลองและวิธีการ	25
สรุปผลการทดลอง	33
เอกสารอ้างอิง	34
ส่วนที่ 3 :	
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขิงแดง	37
บทคัดย่อ	37
คำนำ	38
การตรวจเอกสาร	39
อุปกรณ์และวิธีการ	41
ผลการทดลองและวิธีการ	42
สรุปผลการทดลอง	44
เอกสารอ้างอิง	46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
ตารางที่ 1	ผลของ NAA และ BA ต่อการเจริญเติบโตของตาบัวหลวงที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเมื่ออายุ 16 สัปดาห์	10
ตารางที่ 2	ผลของ IAA และ 2iP ต่อการเจริญเติบโตของตาบัวหลวงที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเมื่ออายุ 20 สัปดาห์.....	11
ตารางที่ 3	ผลของ Rifampicin ร่วมกับ Benomyl ที่มีการปนเปื้อนของชิ้นส่วนเฮลิโคเนีย เมื่อชิ้นส่วนอายุ 8 สัปดาห์.....	26
ตารางที่ 4	แสดงการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี Rifampicin และ Benomy เมื่อชิ้นส่วนอายุ 12สัปดาห์..	27
ตารางที่ 5	ผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่มีต่อการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนเมื่ออายุ 7 สัปดาห์.....	27
ตารางที่ 6	แสดงการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มีCefotaxime ร่วมกับ Benomyl เมื่อชิ้นส่วนอายุ 12 สัปดาห์..	28
ตารางที่ 7	ผลของ Cefotaxime และ Benomyl ต่อคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนเฮลิโคเนีย.....	28
ตารางที่ 8	ผลของ BA และ NAA ต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน เฮลิโคเนีย.....	29
ตารางที่ 9	ผลของ BA ร่วมกับ auxin และผงถ่านต่อการเกิดต้นของเฮลิโคเนียเมื่ออายุ 5 เดือน.....	31
ตารางที่ 10	ผลของ BA ร่วมกับ auxin และผงถ่านต่อความสูงของต้นเฮลิโคเนียเมื่ออายุ 5 เดือน.....	32
ตารางที่ 11	ผลของ BA ร่วมกับ auxin และผงถ่านต่อจำนวนรากของเฮลิโคเนียเมื่ออายุ 5 เดือน.....	32
ตารางที่ 12	ผลของ BA ร่วมกับ auxin และผงถ่าน ต่อความยาวรากของเฮลิโคเนียเมื่ออายุ 5 เดือน.....	33
ตารางที่ 13	ผลของ BA ต่อการเกิดยอด.....	42
ตารางที่ 14	ผลของ NAA ต่อการเกิดราก.....	43
ตารางที่ 15	ผลของวัสดุปลูกต่อ % การตายของต้นย้ายปลูก.....	44
ตารางที่ 16	ผลของวัสดุปลูกต่อความสูงของต้น.....	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
ภาพที่ 1	การเจริญเติบโตของตาบัวหลวงที่เลี้ยงในอาหาร 1/2 MS ที่เติมIAA 3 μM และ 2 iP 10 μM.....	12
ภาพที่ 2	ตายอดเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มี BA 5 mg/l และ NAA 0.1 mg/l เกิดแคลลัส.....	30
ภาพที่ 3	ตายอดเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มี BA 5 mg/l และ NAA 1.5 mg/l เกิดยอด.....	30
ภาพที่ 4	ตายอดเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มี BA 5 mg/l เกิดยอดมาก..	45
ภาพที่ 5	ยอดเกิดรากมากเมื่อเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มี BA 1mg/l และNAA 1.5 mg/l.....	45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวหลวง

(Tissue Culture of Lotus)

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อ การเพิ่มปริมาณต้นบัวหลวงพันธุ์บุณฑริก ในสภาพปลอดเชื้อ ทำโดยนำชิ้นส่วนตามาเลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร 1/2 MS (Murashige & Skoog , 1962) โดยทำการทดสอบผลร่วมของ NAA และ BA และ ผลร่วมของ IAA และ 2 iP ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังการเพาะเลี้ยง 20 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนตาที่เลี้ยงในอาหาร 1/2 MS ที่เติม IAA 3 μM และ 2iP 10 μM ให้ผลดีที่สุด โดยมีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ย 5.88 และเกิดยอดเฉลี่ย 9.56 ยอดต่อชิ้นส่วน มีใบเกิดขึ้น 10.93 ใบต่อชิ้นส่วน ใบมีขนาด 4.30 เซนติเมตร และยังทำให้เกิดรากมากที่สุดอีกด้วย คือ 31.56 ราก โดยมีความยาวรากเฉลี่ย 3.01 เซนติเมตร

Abstract

Effect of growth regulator on *in vitro* organogenesis of lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) cv. Buntarik was studies. Buds were cultured in liquid on solid media of half strength Murashige and Skoog (1962) medium. The various concentrations of NAA and BA or IAA and 2 iP were examined. The best medium for organogenesis was 1/2 MS medium supplemented with 3 μM IAA and 10 μM 2 iP which show the greatest score of growth after 20 weeks of incubation. Buds produced 9.56 shoots per explant and 10.93 leaves per explant and leaf diameter was 4.30 cm. The maximum number of roots (31.5 roots) also derived from this medium and the average root length was 3.01 cm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

บัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gearth.) เป็นพืชที่รู้จักกันเป็นอย่างดีในประเทศไทย พบได้ทั่วไปทั้งในเขตร้อน เขตอบอุ่น และเขตหนาว ในประเทศไทยมีหลายชนิดใช้เป็นไม้ดอกไม้ประดับ นำไปถวายหรือบูชาพระหรือรับประทานส่วนต่างๆเป็นอาหารและยา(อุทัย,2526; Burkill, 1966 ; Subramanyam ,1962) บางครั้งยังส่งบางส่วนของบัวหลวงเป็นสินค้าออกของประเทศอีกด้วย เช่น ดอกบัวหลวง (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2534) ในอนาคตตลาดมีความต้องการบัวหลวงเพิ่มมากขึ้น การเพิ่มผลผลิตของดอกบัวหลวงให้สูงขึ้นจึงเป็นสิ่งที่ควรกระทำเพราะจะช่วยให้มีการส่งออกบัวหลวงได้มากขึ้น แต่ในการเพิ่มผลผลิตและการตลาดของดอกบัวหลวงพบว่ามีปัญหาหลายด้านเช่น ปัญหาเรื่องศัตรูพืช อายุการใช้ประโยชน์สั้นเกินไป ดอกเสียคุณภาพเร็วมากรูปทรงและสีของดอกมีให้เลือกจำกัด เป็นต้น ดังนั้นการส่งเสริมให้มีการปลูกบัวหลวงเป็นการค้ามีจำนวนมากขึ้น จึงจำเป็นต้องมีพันธุ์บัวหลวงที่ดีและมีคุณภาพสูง ต้านทานต่อโรคและแมลง มีคุณภาพของดอกดีและมีรูปแบบของดอกให้เลือกมากขึ้นให้เกษตรกรปลูก ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นเทคนิคหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์และประสพผลสำเร็จในไม้ดอกไม้ประดับหลายชนิด (Ammirato *et al.*,1984) งานทดลองนี้จึงมุ่งศึกษา สารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลในการชักนำให้เกิดต้นบัวหลวงในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งเป็นปัจจัยที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวหลวงเพื่อนำเอาเทคนิคดังกล่าวไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ และขยายพันธุ์บัวหลวงต่อไปในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

บัวหลวงเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ (Family) Nymphaeaceae ซึ่งเป็นวงศ์ของพืชล้มลุกที่มีอายุหลายปีที่เป็นพืชน้ำทั้งหมด (สุชาดา, 2530 ; Correll and Correll ,1975) โดยพืชในวงศ์นี้มี 8 สกุล 50 ชนิด (สุชาดา, 2530 ; Gilbert, 1982) และมีผู้รวบรวมสกุลบัวที่พบในประเทศไทยมี 4 สกุล คือ Nelumbo , Nymphaea , Victoria และ Braelaya (กสิน , 2500) แต่ที่นิยมปลูกมีเพียง 3 สกุลคือ Nelumbo Nymphaea และ Victoria (อำไพ , 2513)

บัวหลวงเป็นพืชที่อยู่ในสกุล (Genus) *Nelumbo* Adans. (Subramanyam, 1962) Gilbert (1982) และ Lawrence (1967) ได้แยกพืชสกุลบัวหลวงออกเป็น 2 ชนิด (Species) คือ *Nelumbo lutea* Pers. และ *Nelumbo nucifera* Gaertn. (Core, 1955 ; Suvatabandhu, 1958 ; Burkill, 1966)

Nelumbo lutea Pers. หรือ *Nelumbium luteum* Willd. มีถิ่นกำเนิดอยู่ในอเมริกา (Core, 1955) มีชื่อสามัญว่า American Lotus , Water Chinkapin หรือ Yellow Lotus (Harris and Leavy, 1975) มีถิ่นกำเนิดอยู่ทางภาคเหนือและภาคตะวันออกของสหรัฐอเมริกา (Core ,1955 ; Suvatabandhu, 1958) ดอกมีสีเหลืองอ่อนขนาด 6 - 10 นิ้ว ดอกจะชูขึ้น 3 ฟุตจากพื้นน้ำ ใบมีสีน้ำเงินอมเขียวและใบมีความกว้าง 1- 2 ฟุต (Gilbert, 1982)บัวหลวงชนิดนี้ขึ้นได้เฉพาะที่มีอากาศหนาวเท่านั้น มีรายงานว่าเคยมีผู้นำเข้ามาปลูกในประเทศไทย แต่ไม่สามารถเจริญได้ (วินิจวนันดร , 2498; Suvatabandhu ,1958)

Nelumbo nucifera Gaertn. หรือ *Nelumbium speciosum* Willd. หรือ *Nelumbo indica* Pers. หรือ *Nelumbium nelumbo* L. Druce มีชื่อสามัญว่า Sacred Lotus, East Indian Lotus, Egyptian Lotus มีถิ่นกำเนิดในเอเชียเขตร้อน และเขตกึ่งร้อนแถบทะเลสาบแคสเบียนจนถึงญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ อินเดีย เปอร์เซียตะวันออก ออสเตรเลียเหนือ (สุเม, 2537)จีน ทิเบต (Core, 1955; Hutchison, 1960) และอาจพบได้ในรัฐฮาวาย (Gilbert , 1982)

สำหรับในประเทศไทยตามรายงานพบพืชสกุลบัวหลวงเพียงชนิดเดียว คือ *Nelumbo nucifera* Gaertn. ซึ่งเรียกโดยทั่วไปว่า " บัวหลวง หรือ ปทุมชาติ " (วินิจวนันดร, 2498; กสิน ,2500 ; Suvatabandhu, 1958)สามารถเจริญได้ดีในน้ำจืดที่มีสภาพเป็นน้ำนิ่งแต่การไหลถ่ายเทได้และมีความลึก 72.5 - 106.5 เซ็นติเมตร pH ของน้ำ 7.45 และงอกงามดีเมื่อไม่มีวัชพืชน้ำปะปน (จารีย์, 2519)

จากการศึกษาของวาสนา (2527) พบว่ามีหลายพันธุ์และหลายชื่อซึ่งอาจแยกออกตามลักษณะรูปร่างและสีของดอกได้ 6 พันธุ์ คือ

พันธุ์ที่ 1 ดอกขนาดใหญ่ ดอกตูมเป็นรูปไข่ปลายเรียว ดอกสีชมพู มีชื่อว่า บัวหลวงชมพู ปทุมปัทมา หรือ โกกระณต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พันธุ์ที่ 2 ดอกขนาดใหญ่ ดอกตูมเป็นรูปไข่เหมือนพันธุ์ที่1ดอกสีขาว
มีชื่อว่า บัวหลวงขาว บุณฑริก หรือ ปุณฑริก

พันธุ์ที่ 3 ดอกขนาดใหญ่ ดอกตูมเป็นรูปไข่ป้อม ดอกสีชมพู
มีชื่อว่า บัวหลวงชมพูซ้อน สัตตบงกช หรือ บัวฉัตรชมพู

พันธุ์ที่ 4 ดอกขนาดใหญ่ ดอกตูมเป็นรูปไข่ป้อมเหมือนพันธุ์ที่ 3
สีขาว มีชื่อว่า บัวหลวงขาวซ้อน สัตตบุษย์หรือบัวฉัตรขาว

พันธุ์ที่ 5 ดอกขนาดเล็ก ดอกตูมเป็นรูปไข่เหมือนพันธุ์ที่ 1 ดอกสีขาว
มีชื่อว่า บัวเข็มขาว บัวปักกิ่งขาว หรือ บัวหลวงจีนขาว

พันธุ์ที่ 6 ดอกขนาดเล็ก ดอกตูมเป็นรูปไข่เหมือนพันธุ์ที่ 5 ดอกสี
ชมพูมีชื่อว่า บัวเข็มชมพู บัวปักกิ่งชมพู หรือบัวหลวงจีนชมพู

การขยายพันธุ์ของบัวหลวง

บัวหลวงสามารถขยายพันธุ์ได้โดยการใช้เมล็ดและต้นใหม่ที่แตกจากไหล แต่ในทางการค้านิยมใช้การปลูกด้วยไหลและต้นใหม่ที่เกิดจากไหลของบัวหลวง

1. การขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศ

การขยายพันธุ์แบบนี้เหมาะที่จะใช้ในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้พันธุ์แปลกๆใหม่ๆขึ้นหลายพันธุ์ โดยธรรมชาติแล้วบัวหลวงจัดเป็นพืชพวกผสมข้าม ทั้งนี้เพราะเกสรตัวผู้จะแก่พร้อมที่จะผสมพันธุ์ได้ในวันที่ 2 หลังจากดอกเริ่มบาน ซึ่งในธรรมชาติแล้วจะมีแมลงและลมช่วยในการผสมเกสรอยู่แล้ว การปลูกด้วยเมล็ดทำได้โดยใส่ดินร่วนหนาประมาณ 1 - 2 นิ้ว โรยเมล็ดเป็นแถวให้ห่างแถวละประมาณ 1 นิ้ว กลบด้วยดินร่วนละเอียดหนา 5 เซ็นติเมตร แล้วค่อยๆพ่นน้ำฝอยจนดินอุ้มน้ำเต็มที่ ปล่อยทิ้งไว้ 1-2 วัน กดผิวหน้าดินให้แน่นพอสมควร นำภาชนะไปแช่น้ำในอ่างให้ผิวหน้าดินอยู่ต่ำกว่าระดับน้ำครึ่งนิ้ว

2. การขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

การขยายพันธุ์แบบนี้นิยมใช้กันมากเพราะเป็นการขยายพันธุ์ที่ทำได้ง่าย สะดวกและรวดเร็ว โดยการตัดแยกต้นอ่อนที่เจริญขึ้นมาใหม่ จากส่วนลำต้นของต้นแม่ที่ใช้เป็นส่วนในการขยายพันธุ์มีดังนี้

2.1 การขยายพันธุ์จากส่วนของเหง้า (Rhizome) เหง้าจัดเป็นส่วนของลำต้นที่อยู่ใต้ผิวดิน การเจริญเติบโตของเหง้าจะเจริญทั้งในแนวนอนใต้ผิวดินและขยายออกรอบทิศ เมื่อเหง้าแก่ก็จะขยายออก และมีการสะสมอาหารหลังจากนั้นตาก็จะแตกออกเป็นต้นอ่อนเจริญขึ้นมา ให้ตัดเหง้าที่ต้นอ่อนเจริญขึ้นมาโดยให้มีส่วนของเหง้าเดิมติดไป 2-3 นิ้ว เหง้าเดิมที่ตัดไปจะมีอาหารสะสมไว้เหลือเฟือสำหรับการสร้างใบและรากเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่

2.2 การขยายพันธุ์จากส่วนของไหล (Stolon) ไหลจะเจริญเติบโตจากส่วนของหัวหรือเหง้าของต้นแม่แล้วงอกเจริญเติบโตเป็นต้นใหม่ จากนั้นให้ตัดแยกไหลดังกล่าวนำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไปขยายพันธุ์ได้ แต่ไหลที่ตัดแยกจากต้นแม่ควรมีการผลิใบลอยเหนือน้ำ 2-3 ใบ ในระยะนี้สามารถตัดแยกไหลนำไปขยายพันธุ์ได้ (สุรเชษฐ์และปัญญา, 2533)

Kane *et al.*(1988a) ได้เลี้ยงส่วนของ rhizome ของบัวหลวง American lotus [*Nelumbo lutea* (Willd.) Pers.] ที่ได้จากการเลี้ยงส่วนของ embryos ใน Liquid Basal medium (BM) 1/2 MS + myo-inositol 0.56 mM + Thiamine - HCl 1.2 μM + Sucrose 87.6 mM พบว่า rhizome สามารถเจริญได้สูงสุดในสูตรอาหารที่เติม GA_3 290 μM (100 mg / l)

Kane *et al.* (1988b)รายงานการเลี้ยงส่วนปลายยอดของ *Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdcourt (Parrot-feather) และ *Limnophila indica* (L.) Druce. (Ambulia) ใน liquid basal medium (BM) 1/2 MS + Sucrose 87.6 mM + 2iP10 μM และ BA 2.5 μM สามารถชักนำให้*Myriophyllum aquaticum* (Vell.) Verdcourt (Parrot-feather) เกิดยอดได้ 19 ยอด ต่อชิ้นส่วน และ สามารถชักนำให้ *Limnophila indica* (L.) Druce. (Ambulia) เกิดยอด 11 ยอดต่อชิ้นส่วน หลังจากทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน

Kane *et al.* (1988c) รายงานว่าการเลี้ยงตาที่ติดกับข้อของ Parrot-feather [*Myriophyllum aquaticum* (Vellozo) Verdcourt] โดยเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร 1/2 MS + sucrose 87.6 mM + TC agar (Hazleton Research Products, Inc., Lenexa, Kan.) 15 g/l สามารถชักนำให้เกิดยอดยาว 5-6 ข้อ หลังจากทำการเพาะเลี้ยงนาน 2 สัปดาห์ แล้วนำไปเลี้ยงในอาหาร MS + sucrose 87.6 mM + thiamine-HCl 1.2 μM + myo-inositol 0.56 mM และวุ้น 8 g/l + 2iP 10 μM (2 mg / l) สามารถชักนำให้เกิดยอดได้

Jenks *et al.* (1990) ได้รายงานการเลี้ยงส่วนของใบอ่อนที่เกิดตามธรรมชาติของ Nymphaea ' Daubeniana'โดยนำไปเลี้ยงใน liquid basal medium (BM) 1/2 MS + sucrose 87.6 mM + thiamine-HCl 1.2 μM + myo-inositol 0.56 mM ที่เติม 2iP 10 μMและ IAA 3 μM เป็นเวลานาน 5 สัปดาห์จากนั้นนำไปเลี้ยงบนอาหารแข็ง BM +TC agar 0.8 % (W/V) เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ แล้วย้ายลงในอาหาร BM + Thidiazuron 3 μM ในภาชนะ Magenta GA-7 โดยวางชิ้นส่วนบน Polypropylene membrane ขนาด 53 x 53 ml เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วน 12 ชิ้นส่วนจาก 16 ชิ้นส่วนเกิด Aerial leaves 8ใบต่อชิ้นส่วน

Kane *et al.* (1990) ได้ทำการเพาะเลี้ยงปลายยอดของ *Cryptocoryne lucens* de witt. บนอาหารสูตร LS (Linsmaier and Skoog, 1965) ที่เติม BA 20 μM และ NAA 0.5 μM สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 7.7 ยอดต่อชิ้นส่วน หลังจากทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 35 วัน

Kane *et al.* (1991) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Myriophyllum aquaticum* ในอาหารเหลว พบว่า อาหารที่มี 2iP 40 μM ร่วมกับ NAA 0.1 μM จะชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Roca (1992) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาดอกที่ส่วนยอดของกล้วยจำนวน 10 พันธุ์ ในฟิลิปปินส์ในอาหาร MS ที่เติม 2iP ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 mg/l ร่วมกับ NAA 1.0 mg/l ผล ปรากฏว่าสามารถชักนำให้กล้วยพันธุ์ "Saba" เกิดยอดได้

Prakash (1994) ได้ศึกษาพบว่าส่วนตาไหลของ Nymphaea hybrid James Brydon มี ความเหมาะสมที่สุดในการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อและได้ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหาร 1/2 MS + Sucrose 3 % โดยใช้สารควบคุมความเจริญคือ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 4 และ 8 μM และ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 4.4 ,11.1 ,17.8, 22.2 และ 44.4 μM และ 2iP ที่ระดับความเข้มข้น 0, 24.6, 32.0และ 49.2 μMเติมวุ้น 0.2 % พบว่าอาหารที่เติม 2iP 32.0 μM+NAA 8 μM + BA 11.1 μM สามารถชักนำให้เกิด ยอดได้มากที่สุด ช่วงแสงที่เหมาะสมคือ 16 ชั่วโมงต่อวัน เมื่ออายุครบ 45 วันก็ย้ายต้นพืชไปเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตและใส่ถ่านผงถ่าน0.5 g/l พบว่าพืชมีการพัฒนาระบบรากขึ้นภายใน 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการทดลองโดยใช้บัวหลวงพันธุ์บุณฑริก โดยนำตาจากไหลของบัวมาทำการฟอกฆ่าเชื้อ โดยแช่ย่าใน ethanol 70 % นาน 1 นาที ตามด้วย mercuric chloride 0.1 % + tween 20 2 หยด นาน 10 นาที, calcium hypochlorite 5 %+ tween 20 2 หยด นาน 30 นาที, calcium hypochlorite 5 % + tween 20 2 หยด นาน 10 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 5 นาที แล้วนำตาไปเลี้ยงในอาหารเหลวบนอาหารแข็งสูตร 1/2 MS (Murashige & Skoog, 1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ดังในการทดลองที่ 1 และ 2 แล้วนำไปเลี้ยงที่ อุณหภูมิ 25 $\pm$ 3องศาเซลเซียส และ ให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน

แบ่งการทดลองเป็น 2 การทดลองดังนี้

<u>การทดลองที่1</u> ผลของ NAA และ BA ต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Randomized Complete Block Design มี 3 ซ้ำ โดยให้ NAA(α-napthalene acetic acid) เป็น Factor A มี 4 ระดับ คือ 0, 0.5 , 1 , 1.5 μM และให้ BA(6-benzyl amino purine)เป็น Factor B มี 5 ระดับ คือ 0, 2.5 , 5 , 7.5 และ 10 μM ทำการบันทึกผลโดยบันทึก จำนวนใบ ขนาดใบ ความยาวก้านใบ จำนวนยอด จำนวนราก ความยาวราก และการเจริญเติบโตโดยการให้คะแนนมีเกณฑ์การให้คะแนน ดังนี้

คะแนนที่ 1 : ชิ้นส่วนมีสีเหลืองซีด ไม่มีการเปลี่ยนแปลงขนาดตั้งแต่เริ่มต้น แสดงอาการตาย

คะแนนที่ 2 : ชิ้นส่วนมีสีเขียวตรงฐาน แต่ปลายชิ้นส่วนดำ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงขนาด

คะแนนที่ 3 : ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโต โดยเริ่มแตกออกจากกาบของตาไหลบัว มีสีเขียว มีขนาดใหญ่กว่า 5 เซนติเมตร

คะแนนที่ 4 : ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตโดยเริ่มแตกใบ ก้านใบยืดยาวออก ลักษณะเป็นสีเขียว

คะแนนที่ 5 : ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโต โดยเริ่มมีการแตกตา มีใบเกิดขึ้นจริง ก้านใบยืดยาวออก

คะแนนที่ 6 : ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโต โดยเริ่มมีการออกราก มียอดมากกว่า 10 ยอด มีใบเกิดขึ้น ก้านใบเริ่มยืดยาวออก ลักษณะเป็นสีเขียว

<u>การทดลองที่2</u> ผลของ IAA และ 2iP ต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Randomized Complete Block Design มี 3 ซ้ำ โดยให้ IAA(Indole-3 acetic acid) เป็น Factor A มี 3 ระดับ คือ 0, 3, 6 μM และให้ 2iP(2-isopentenyl adenine)เป็น Factor B มี 5 ระดับ คือ 0, 5 ,10, 15, และ 20 μM ทำการบันทึกผลโดยบันทึก จำนวน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบ ขนาดใบ ความยาวก้านใบ จำนวนยอด จำนวนราก ความยาวราก และการเจริญเติบโตโดยการให้คะแนนมีเกณฑ์การให้คะแนน ดังนี้

คะแนนที่ 1 : ชิ้นส่วนมีสีเหลืองซีดมีการเปลี่ยนแปลงของขนาดเพียงเล็กน้อย และเปลี่ยนแปลง เป็นสีน้ำตาลหรือดำ และแสดงอาการตาย

คะแนนที่ 2 : ชิ้นส่วนมีสีเขียวตรงฐาน แต่ปลายชิ้นส่วนดำ มีการเปลี่ยนแปลงของขนาดเพียงเล็กน้อย

คะแนนที่ 3 : ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตปานกลาง เห็นส่วนของกาบหุ้มใบเจริญออกจากกาบหุ้มตา

คะแนนที่ 4 : ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตปานกลาง ก้านใบยืดตัวออกจากกาบหุ้มตามีสีเขียวยาว 0.7-1.5 เซนติเมตร มีใบเกิดขึ้น 1-2 ใบ และใบมีขนาดเล็กกว่า 1 เซนติเมตร

คะแนนที่ 5 : ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตดี มีใบเกิดขึ้น 5-7 ใบ ใบมีขนาด1.0-2.0 เซนติเมตร ก้านใบยาว 10-15 เซนติเมตร เกิดราก 10-15 ราก มีการแตกยอด 2-5 ยอด

คะแนนที่ 6 : ชิ้นส่วนที่มีการเจริญเติบโตดี มีใบเกิดขึ้นมากกว่า 7 ใบ ใบมีขนาด 2-2.5 เซนติเมตรตัวใบคลี่ขยายตัวอย่างชัดเจน ก้านใบยาวมากกว่า 30 เซนติเมตร เกิดรากจำนวนมากกว่า 25 รากมีการแตกยอดมากกว่า 7 ยอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 ผลของ NAA และ BA ต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน

เมื่อนำตาของบัวมาเลี้ยงในอาหาร 1/2 MSที่เติม NAA และ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ ชิ้นส่วนเริ่มมีการเปลี่ยนแปลง เมื่อสัปดาห์ที่ 4 โดยชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี NAA 0.5μM มีการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนดีที่สุด แต่หลังจากนั้นชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มีทั้ง NAA และ BA ชิ้นส่วนจะมีการพัฒนาดีกว่า อาหารที่มี NAA หรือ BA เพียงอย่างเดียว โดยเมื่อสัปดาห์ที่ 12 ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี NAA 1 μM และ BA 7.5 μM ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตดีที่สุด ชิ้นส่วนเกิดตา 1-3 ตา มีใบเกิดขึ้น 1-3 ใบ ในขณะที่ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารสูตรอื่น ๆ เริ่มมีการแตกตาเท่านั้น และเมื่อสัปดาห์ที่ 16 ส่วนใหญ่ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น แต่ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารทุกชนิด การเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 1) ชิ้นส่วนเริ่มมีการแตกยอดมากขึ้น เห็นใบยืดยาว ใบมีสีเขียวเข้ม ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่เติม NAA 1μM และ BA 7.5 μM มีการเจริญเติบโตดีที่สุดโดยมีคะแนนเฉลี่ย 4.44 มีการแตกยอด มีความยาวก้านใบ 2.38 เซนติเมตร มีใบ 1 ใบ ขนาดใบ 1.17 เซนติเมตร ส่วนชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่มี NAA 0.5 μM ร่วมกับ BA 2.5 μM มีคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตต่ำที่สุดเท่ากับ 3.22 คะแนน มียอดจำนวน 1.66 มีความยาวก้านใบ 1.48 เซนติเมตร มีใบ 1 ใบ แต่มีขนาดใบใหญ่ที่สุด คือ 2.30 เซนติเมตร ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่เติม NAA 1.5 μM เพียงอย่างเดียว ชิ้นส่วนมีการเกิดราก แต่มีการแตกตาน้อยกว่าในอาหารที่เติม BA 5 μM และมีความยาวก้านใบสั้นกว่า ขนาดใบเล็กกว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่เติม NAA 0.5 ร่วมกับ BA ที่ระดับ 1 และ 7.5 μM ตามลำดับ โดยชิ้นส่วนมีการแตกยอด 2.17 ยอด มีความยาวก้านใบ 1.67 เซนติเมตร มีใบ 1 ใบ ขนาดใบ 1.01 ซม และชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่เติม BA 5 μM เพียงอย่างเดียว ชิ้นส่วนมีจำนวนยอดมากที่สุด เท่ากับ 3.17 ส่วนอาหารที่มี NAA1 μM โดยไม่มี BA ร่วมด้วยจะมีการเกิดยอดน้อยที่สุด เท่ากับ1.33 ยอด(ตารางที่ 1) จากผลการทดลองจึงเห็นว่าแม้สารควบคุมการเจริญเติบโตไม่มีผลทำให้เกิดยอดและรากที่แตกต่างกันแต่ผลการทดลองก็สนับสนุนรายงานที่ว่า สัดส่วนของ auxin และ cytokinin ที่เหมาะสมส่งเสริมการเกิดยอดและราก (George and Sherrington, 1984)

การทดลองที่ 2 ผลของ IAA และ 2 iP ต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน

ชิ้นส่วนตาเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเลี้ยงได้ 4 สัปดาห์ โดยชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่มี IAA 3 μM และ 2 iP 10 μM มีการเจริญเติบโตดีที่สุด ชิ้นส่วนเปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อนมีลักษณะบวมพองที่ฐานมีการขยายตัวมากขึ้น กาบหุ้มตามีรอยปริแยก และเห็นก้านใบชัดเจนเมื่อชิ้นส่วนมีอายุ 8 สัปดาห์ (ภาพที่ 1A) โดยมีความยาวประมาณ 0.5-0.8 เซนติเมตร และเริ่มมีตายอด(ภาพที่ 1B) เกิดขึ้นเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนนาน 12 สัปดาห์ และมียอดและใบเพิ่มขึ้นเมื่อเลี้ยงนานขึ้น โดยพบว่ามีตาเพิ่มขึ้น 3-5 ตา และมีรากเกิดขึ้น เมื่อชิ้นส่วนอายุ 20 สัปดาห์ ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารนี้ยังคงมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญเติบโตดีที่สุด (ภาพที่ 1C) โดยมีคะแนนการเจริญเติบโตเฉลี่ย 5.88 และเกิดยอดสูงที่สุดคือ 9.56 ยอด(ตารางที่ 2) และแตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตรอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับงานของ Douglas(1984) และ Meyer(1982) ที่ IAA และ 2 iP มีผลทำให้ Rhododendron เกิดยอดจำนวนมาก

ตารางที่ 1 ผลของ NAA และ BA ต่อการเจริญเติบโตของตาบัวหลวงที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเมื่ออายุ 16 สัปดาห์

NAA (µM)	BA (µM)	คะแนนการเจริญเติบโต (±SE)	จำนวนยอด (±SE)	จำนวนใบ (±SE)	ขนาดใบ (ซม) (±SE)	ความยาวก้านใบ(ซม) (±SE)	จำนวนราก (±SE)
0	0	3.78±0.09	1.66±0.28	1.00±0.00	1.43±0.19	2.27±0.47	0.00±0.00
	2.5	4.22±0.32	2.66±0.72	1.00±0.00	1.40±0.28	1.86±0.17	0.00±0.00
	5.0	4.22±0.32	3.17±0.75	1.00±0.00	1.57±0.29	1.60±0.14	0.00±0.00
	7.5	4.33±0.15	3.00±0.62	1.00±0.00	1.47±0.34	1.97±0.16	0.00±0.00
	10.0	4.11±0.24	2.17±0.13	1.00±0.00	1.30±0.27	1.76±0.23	0.00±0.00
0.5	0	4.39±0.05	2.33±0.15	1.00±0.00	1.25±0.10	1.71±0.04	0.00±0.00
	2.5	3.22±0.50	1.66±0.28	1.00±0.00	2.30±0.93	1.48±0.24	0.00±0.00
	5.0	3.67±0.27	1.66±0.28	1.00±0.00	1.16±0.08	1.53±0.35	0.00±0.00
	7.5	4.22±0.05	2.66±0.73	1.33±0.27	1.39±0.28	1.94±0.46	0.00±0.00
	10.0	3.94±0.22	1.66±0.28	1.00±0.00	1.52±0.30	1.73±0.08	0.00±0.00
1.0	0	3.39±0.04	1.33±0.28	1.00±0.00	1.40±0.08	2.16±0.33	0.00±0.00
	2.5	4.17±0.13	2.00±0.00	1.00±0.00	1.30±0.14	1.35±0.27	0.00±0.00
	5.0	4.00±0.15	2.33±0.55	1.00±0.00	1.61±0.32	1.39±0.25	0.00±0.00
	7.5	4.44±0.24	3.00±0.47	1.00±0.00	1.17±0.10	2.38±0.39	0.00±0.00
	10.0	3.50±0.07	1.66±0.28	1.00±0.00	1.03±0.08	1.56±0.23	0.00±0.00
1.5	0	4.22±0.39	2.17±0.49	1.00±0.00	1.01±0.10	1.67±0.16	5.00±0.47
	2.5	3.78±0.18	2.00±0.47	1.00±0.00	1.35±0.14	1.53±0.34	0.00±0.00
	5.0	3.78±0.32	2.00±0.47	1.11±0.08	1.27±0.16	1.82±0.32	0.00±0.00
	7.5	3.44±0.18	2.17±0.49	1.00±0.00	1.29±0.21	1.47±0.23	0.00±0.00
	10.0	3.94±0.27	1.66±0.28	1.00±0.00	1.27±0.02	2.04±0.35	0.00±0.00
F-Test		NS	NS	NS	NS	NS	
CV%		6.59	52.15	13.23	29.90	40.72	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

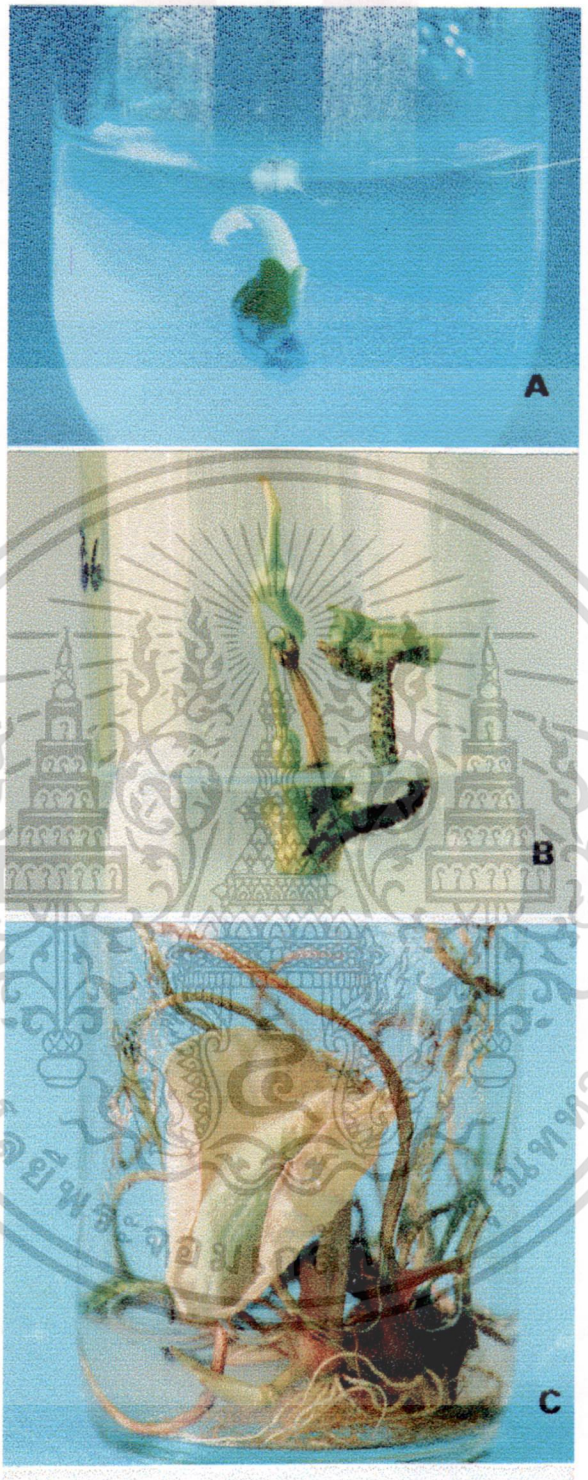
ตารางที่ 2 ผลของ IAA และ 2iP ต่อการเจริญเติบโตของตาบัวหลวงที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเมื่ออายุ 20 สัปดาห์

IAA (µM)	2 iP (µM)	คะแนนการเจริญเติบโต (±SE)	จำนวนยอด (±SE)	จำนวนใบ (±SE)	ขนาดใบ (ซม) (±SE)	ความยาวก้านใบ(ซม) (±SE)	จำนวนราก (±SE)	ความยาวราก(ซม) (±SE)
0	0	1.00 ± 0.00^{G}	0.00 ± 0.00^{D}	0.00 ± 0.00^{F}	0.00 ± 0.00^{F}	0.00±0.00	0.00 ± 0.00^{D}	0.00±0.00
	5	2.44 ± 0.33^{F}	0.66 ± 1.00^{D}	1.11 ± 1.33^{DEF}	0.28 ± 0.39^{EF}	1.90±1.19	2.22 ± 3.33^{CD}	0.43±0.35
	10	3.33 ± 0.83^{CDEF}	0.89 ± 1.16^{D}	1.55 ± 1.34^{DEF}	3.50 ± 1.60^{AB}	4.62±2.67	$3.113.66^{BCD}$	0.56±0.50
	15	3.44 ± 0.67^{CDEF}	0.00 ± 0.00^{D}	0.44 ± 0.16^{EF}	3.28 ± 3.08^{ABC}	5.72±3.50	0.00 ± 0.00^{D}	0.00±0.00
	20	2.77 ± 0.17^{EF}	0.44 ± 0.66^{D}	1.11 ± 0.83^{DEF}	0.73 ± 0.70^{DEF}	3.10±3.03	3.22 ± 4.88^{BCD}	0.52±0.48
3	0	3.66 ± 0.00^{BCDEF}	0.44 ± 0.33^{D}	1.77 ± 1.17^{DE}	3.20 ± 0.83^{ABC}	13.04±7.42	3.44 ± 4.50^{BCD}	1.28±1.41
	5	4.88 ± 0.17^{AB}	3.67 ± 3.17^{BC}	4.22 ± 0.33^{BC}	2.38 ± 0.38^{ABCD}	21.28±4.06	7.89 ± 3.83^{BC}	2.04±0.58
	10	5.88 ± 0.17^{A}	9.56 ± 0.16^{A}	10.93 ± 0.33^{A}	4.30 ± 2.14^{A}	25.74±2.50	31.56 ± 1.66^{A}	3.01±0.13
	15	4.44 ± 0.50^{BC}	3.78 ± 1.16^{B}	4.55 ± 1.33^{B}	3.56 ± 3.56^{ABC}	15.24±3.58	9.33 ± 4.83^{B}	1.43±0.47
	20	4.00 ± 0.50^{BCDE}	0.88 ± 0.50^{CD}	2.11 ± 0.83^{CDE}	4.03 ± 1.09^{A}	12.58±3.07	4.22 ± 0.83^{BCD}	1.40±0.40
6	0	3.44 ± 0.83^{CDEF}	0.00 ± 0.00^{D}	1.22 ± 0.67^{DEF}	1.31 ± 0.51^{BCDEF}	9.12±3.36	3.33 ± 2.33^{BCD}	1.00±1.00
	5	3.88 ± 0.33^{BCDE}	0.55 ± 0.16^{D}	1.66 ± 0.34^{DE}	1.90 ± 0.49^{ABCDE}	11.86±4.21	4.33 ± 2.00^{BCD}	1.42±0.38
	10	4.22 ± 0.34^{BCD}	1.56 ± 0.50^{BCD}	2.55 ± 0.84^{BCD}	1.42 ± 0.44^{BCDEF}	10.82±5.96	7.67 ± 0.84^{BC}	1.02±0.71
	15	3.66 ± 0.50^{BCDEF}	0.66 ± 0.33^{CD}	1.44 ± 0.50^{DEF}	1.90 ± 0.51^{CDEF}	12.48±7.64	3.78 ± 0.50^{BCD}	0.70±0.30
	20	3.11 ± 0.34^{DEF}	0.33 ± 0.33^{D}	0.88 ± 0.17^{DEF}	0.83 ± 0.70^{DEF}	5.21±2.91	2.33 ± 2.50^{BCD}	0.82±0.81
F-test		**	*	**	**	NS	**	NS
CV%		13.84	20.01	14.08	18.02	23.77	13.84	16.90

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P<0.05$ เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan' s New Multiple Range Test.

อาหารที่ให้ผลรองลงมาคืออาหารที่มี IAA 3 µM ร่วมกับ 2iP 5,15 µM โดยอาหารทั้งสองชนิดทำให้ชิ้นส่วนเกิดจำนวนยอดแตกต่างกันกับ อาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต และอาหารที่มี 2iP เพียงอย่างเดียวซึ่งไม่ทำให้เกิดยอดเลย (ตารางที่ 2) นอกจากนี้ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่มี IAA 3 µM และ 2 iP 10 µM ยังเกิดใบ10.93 ใบ และแตกต่างจากอาหารสูตรอื่นๆ แต่ในอาหารสูตรนี้ขนาดใบเฉลี่ยไม่แตกต่างกับอาหารที่มี IAA 0 µM ร่วมกับ 2iP 10 ,15 µM และอาหารที่มี IAA 3 µM ร่วมกับ 2iP 5,15 µM รวมทั้งอาหารที่มี IAA 6 µM ร่วมกับ 2iP 5 µM และในอาหารทุกชนิดไม่ทำให้ความยาวก้านใบแตกต่างกัน นอกจากนี้ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่มี IAA 3 µM ร่วมกับ 2iP 10 µM มีผลทำให้เกิดรากมากที่สุด คือ 31.56 ราก โดยเริ่มเกิดรากเมื่อสัปดาห์ที่ 12 ส่วนอาหารที่ไม่มีทั้ง IAA และ 2iP ชิ้นส่วนไม่เกิดรากเลย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 การเจริญเติบโตของตาบัวหลวงที่เลี้ยงในอาหาร 1/2 MSที่เติม IAA 3 μMและ2 iP10μM หลังจากเลี้ยง 4 สัปดาห์(A) หลังจากเลี้ยง 8 สัปดาห์(B) หลังจากเลี้ยง 20 สัปดาห์(C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ให้ผลดีที่สุดต่อการเจริญเติบโตของตาบัวหลวงที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ คือ IAA 3 μM ร่วมกับ 2iP 10 μM โดยชิ้นส่วนเกิดยอดและราก มากกว่าอาหารชนิดอื่นๆ หลังจากเลี้ยงเป็นเวลานาน 20 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2534 . ทะเบียนผู้ประกอบการไม้ดอกไม้ประดับปี 2534 กลุ่มไม้ดอกไม้ประดับ กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพ. 45 น.

กสิน สุวตะพันธ์. 2500 บัวนานาพันธุ์. พฤกษชาติ 1(1) : 40-47.

จารีย์ หอยทอง. 2519. การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของบัวบางชนิดในประเทศไทย.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วาสนา มิตรานนท์.2527.การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของบัวสกุลบัวหลวง(*Nelumbo* Adans.) ในประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วินิจวนันคร, พระยา. 2498. ไม้ประดับบางชนิดของไทย. โรงพิมพ์รุ่งเรืองธรรม, กรุงเทพฯ. 81 น.

สุชาดา ศรีเพ็ญ. 2530. พรรณไม้น้ำ. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 233 น.

สุเม อรัญนารถ. 2537. ปทุมชาติ บัวตัดดอกที่อนาคตยังสดใส. ชัยพฤกษ์วิทยาศาสตร์. 291 : 30-32

สุรเชษฐ จิตตะวิกุล และ ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์. 2533. เทคนิคการปลูกบัว . ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 52 น.

อำไพ ยงบุญเกิด. 2514. บัว. กสิกร. 44(1) : 3-8

อุทัย สินธุสาร. 2525. สารานุกรมไม้ประดับในประเทศไทย เล่มที่ 3. อมรินทร์การพิมพ์ กรุงเทพฯ.

Ammirato P.V., D.A. Evans, W.R. Sharp and Y.P.S. Bajaj. Handbook of Plant Cell CultureVol.5 Ornamental Species. McGraw-Hill Publishing Company. New York.

Backer, C.A. and R.C. Bakhuizen Van den Brink. 1963. Flora Of Java. etherland. (Groningen) : N.V.P. Noordhoff.

Burkill, I. H. 1966. A Dictionary of the Economic Products of the Malay Peninsula. Vol. II. Ministry of Agriculture and cooperatives, Kuala Lumpur.

Core, L.E. 1955. Plant Taxonomy. Englewood Cliffs, Prentice-Hall,Inc. New Jersey. 459 p.

Correll, D.S. and H.B. Correll. 1975 Aquatic and Wetland Plants of Southwestern United States. Standford University Press, Standford. 1,777 p.

Douglas G.C. 1984. Propagation of eight cultivars of Rhododendron in vitro using agar solidified and liquid media and direct rooting of shoot in vitro . ScientiaHort. 24:337-347.

George E.F. and P.D. Sherrington. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Eastern Press, Reading ,Berks Great Britain.

Gilbert, S. 1982. The culture of water lilies and water lotuses. Horticulture. August:16-23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Harris, W.H. and J.S. Levey. 1975 . The new Columbia Encyclopedia. 4 th ed.New York : Columbia University Press.

Hutchinson, J. 1959. The Family of Flowering Plants. The Clarendohn Press, Oxford. 510 p.

Jenks M.A. , M.E. Kane, F. Marousky, D. Mcconnell and T. Sheehan. 1990. *In Vitro* establishment and epiphyllous plantlet regeneration of Nymphaea ' Daubeniana'.HortScience. 25 (12) : 1664.

Kane, M.E., T.J. Sheehan, and F.H. Ferwerda. 1988a. *In vitro* growth of American lotus embryos. HortScience 23(3):611-613.

Kane, M.E., D.B. McConnell and T.J. Sheehan. 1988b. *In vitro* regeneretion studies on ornamental aquatic plants : *Myriophyllum aquaticum* and *Limnophila indica.* HortScience. 23(3):780.

Kane, M.E., D.B. McConnell, T.J. Sheehan. and B. Dehgan. 1988c. A laboratory exercise to demonstrate adventitious shoot formation using stem internodes of parrot-feather. HortScience 23(2):408.

Kane , M.E. , E. F. Gilman, M.A. Jenks and T.J. Sheehan.1990.Micropropagation of aquatic plant *Cryptocoryne lucens*. HortScience 25(6) : 687-689.

Kane , M.E. , E. F. Gilman, M.A. Jenks.1991. Regeneration capacity of *Myriophyllum aquaticum* culture *in vitro*. Journal of Aquatic Plant Management. 29:102-109.

Lawrence, H.M. 1967. Nymphaeaceae.Taxonomy of Vascular Plants. Oxford & IBH. Publishing Company, Calcutta. 823 p.

Meyer M.M 1982 *In Vitro* propagation of *Rhododendron catawbiense* from flower buds HortScience 17 : 891-892

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

Okazawa , Y.,N. Katsura and T. Tagawa. 1966. Effect of auxin and kinetin on development and differentiation of potato tissue culture *In vitro*. Physiol Plant. 20 :862-869.

Prakash, L. 1994. I*n vitro* establishment and multiplication of Nymphaea hybrid ' James Brydon' Plant Cell Tissue and Organ Culture 36 : 145-148.

Roca, H.R. 1992. Floral apex culture of phillippine banana cultivars (In AGRIS abstracts 1993-11/1994). Thesis (M.S. in Horticulture) Philippine University.Los Banos College. Philippine.

Suvatabandhu, K. 1958. On the Nymphaeaceae of Thailand. Nat. Hist. Bull. Siam. Soc.17:11-15.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Subramanyam, K. 1962. Aquatic Angiosperms. New Delhi : Council of Scientific and Industrail Research.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเฮลิโคเนีย (กล้วยก้ามกุ้ง)

Tissue Culture of of *Heliconia* sp.

บทคัดย่อ

ทำการศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อและ สูตรอาหารที่เหมาะสม ในการเพิ่มปริมาณเฮลิโคเนียในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อตายอดด้วย ethanol 70% นาน 1 นาที ตามด้วย mercuric chloride เข้มข้น 0.1% +tween20 2 หยด นาน 10 นาที และตามด้วย Calcium hypochlorite เข้มข้น 1% + Tween20 2 หยด นาน 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที แล้วนำตายอดไปเลี้ยงบนอาหารดัดแปลง Murashige & Skoog (1962) ที่เติม cefotaxime 50 mg/l ร่วมกับ Benomyl 50 mg/l พบว่าสามารถขจัดเชื้อที่ติดมากับชิ้นส่วนได้ 33.33% สำหรับการเพิ่มปริมาณยอดนั้นทำได้โดย เลี้ยงตายอดในอาหารดัดแปลง MS ร่วมกับ BA 5 mg/l และ NAA 0.1 mg/l แล้วย้ายลงอาหารที่มี BA 5 mg/l ร่วมกับ NAA 1.5 ต่อลิตร เพื่อเพิ่มปริมาณยอดและราก

Abstract

Sterilization and suitable media for *in vitro* propagation of *Heliconia* sp. were studied. The best disinfestation method was found by washing buds with 70% ethanol for 1 min and then shaken in 0.1% mercuric chloride plus 2 drops of Tween 20 for 10 min and followed by 5% calcium hypochlorite plus 2 drops of tween 20 for 20 min and 1% calcium hypochlorite plus 2 drops of tween 20 for 10 min and then rinsed 3 times in sterile distilled water. Buds were cultured on modified Murashige & Skoog medium (1962) with 50 mg/l cefotaxime and 50 mg/l benomyl. It was found that 33.33% clean explants were obtained. Shoot multiplication and root induction were achieved on modified MS medium with 5 mg/l BA and 0.1 mg/l NAA and followed by culturing on modified MS medium with 5 mg/l BA and 1.5 mg/l NAA.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

29786

คำนำ

ปัจจุบันเฮลิโคเนีย หรือ ธรรมรักษา (*Heliconia* sp.) กำลังเป็นที่นิยมภายในประเทศ จึงได้มีการนำพันธุ์ใหม่ ๆ เข้ามาจากต่างประเทศมาปลูกเพื่อเป็นไม้ตัดดอก ไม้กระถาง และตกแต่งสวน ปัจจุบันได้มีการส่งเฮลิโคเนียออกไปจำหน่ายต่างประเทศเป็นจำนวนมากติดอันดับ 1 ใน 10 อันดับของไม้ตัดดอกส่งออก (จันทร์กระพ้อ, 2534) วิธีการขยายพันธุ์ในปัจจุบันใช้วิธีการแยกหน่อ และเพาะเมล็ด (จิรายุพิน, 2534) ซึ่งเป็นการขยายพันธุ์ที่ช้าสำหรับการเพิ่มปริมาณในเชิงการค้าดังนั้นจึงจำเป็นต้องอาศัยการขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้ามาช่วยเพิ่มให้ได้ต้นพันธุ์ปริมาณมากในเวลาอันรวดเร็ว

ได้มีรายงานการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเฮลิโคเนีย และกล้วย (Nathan, *et al.*, 1922) เบญจมาศและ Gamborg (2529) อรดี และปาริชาต (2526) พบว่า อาหารพื้นฐานที่ใช้ได้ผลดีคือ อาหารดัดแปลง Murashige and Skoog (1962) และสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลทำให้เกิดยอดและรากคือ BA และ NAA นอกจากนี้การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนเริ่มต้นของเฮลิโคเนีย ทำได้ยากเกิดการปนเปื้อนมาก ดังนั้นการทดลองครั้งนี้จึงได้ศึกษาวิธีการขจัดการปนเปื้อนของชิ้นส่วนเริ่มต้นและสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มยอด และรากของเฮลิโคเนีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

เฮลิโคเนีย มีถิ่นกำเนิดในแถบอเมริกาเขตร้อนและอเมริกาใต้ เป็นพืชที่มีสกุลเดียว(จิรายุ พิน,2534)อยู่ในวงศ์ Heliconiaceae มีอยู่ประมาณ 250 ชนิด (Kress,1993) มีความสูงตั้งแต่ 30 เซนติเมตร จนถึง 6 เมตร (Broschat and Donselman , 1983) เฮลิโคเนีย เป็นพืชล้มลุกข้ามฤดูหรือหลายฤดู บางชนิดต้นสูงจะมีลักษณะคล้ายต้นกล้วย มีลำต้นอัดตัวรวมกันแน่นเป็นเหง้าทอดเลื้อยไปใต้ดิน มีก้านใบรวมหุ้นอยู่ด้วยกันแบบกาบกล้วย แต่ผอมกว่า กาบใบนี้จะสลับกันทำให้ดูเหมือนว่าเป็นลำต้นตั้งอยู่ ใบมักใหญ่คล้าย ๆ ใบกล้วย ในบางชนิดหน่อจะเกิดที่โคนต้น แต่บางชนิดหน่อจะเกิดห่างจากต้นเดิม บางชนิดเมื่อใบเจริญเต็มที่ประมาณ 4-5 ใบ จะเกิดช่อดอกขึ้นที่กลางกอ ช่อดอกมีใบประดับรองรับอยู่ ใบประดับมีสีสวยงามเรียงสลับกันไปลักษณะเหมือนรูปเรือและมักจะอยู่ในระนาบเดียวกัน ภายในมีดอกคล้ายดอกกล้วยเล็ก ๆ เป็นหลอด ภายในมีเกสร 6 อัน ซึ่งเจริญเพียง 5 อัน ส่วนอีก 1 อันเป็นหมัน เกสรตัวผู้ยาวไปตามกลีบดอก รังไข่มี 1 ภายในมี 3 ช่อง ผลเป็นผลนุ่มคล้ายกล้วยเล็ก ๆ เมล็ดแข็ง เฮลิโคเนีย แบ่งเป็น 2 ชนิด คือช่อดอกตั้งแต่และช่อดอกห้อย เป็นพืชที่ ชอบดินกรดpH 5.4-6.2 (จิรายุพิน, 2534)

ปิยา และ อุเทน (2533) ได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Heliconia psittacorum* พบว่าการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอร็อกซ์เข้มข้น 2% นาน 60 นาที จะมีเปอร์เซ็นต์ของหน่อที่ปลอดเชื้อสูงที่สุด เมื่อนำไปเลี้ยงบนอาหารเหลวสูตร MS + BA 5 mg/1 หน่อจะมีการเจริญเติบโตเร็วขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงบนอาหารแข็งในสูตรอาหารเดียวกันปรากฏว่ามีสารสีน้ำตาลรอบ ๆ หน่อบนอาหารแข็ง ส่วนในอาหารเหลวจะมีสีน้ำตาลอ่อน การเลี้ยงในสภาพ paper bridge จะทำให้หน่อที่ได้เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลทั้งหน่อและตายในที่สุด

กัลยาณี และ คณะ (2533) ได้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยหอมพันธุ์ Grand Nain โดยนำปลายยอดของกล้วยขนาด 1 ลูกบาศก์นิ้ว มาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย clorox 10% นาน 15 นาที ตัดแบ่งตามยาว ออกเป็น 4 ส่วน เลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ซึ่งเติมน้ำมะพร้าว 15% และ BA 1 mg/1 พบว่า เนื้อเยื่อมีการเพิ่มขนาดเปลี่ยนเป็นสีเขียวตายยอด และตามข้างที่อยู่ระหว่างซอกใบ มีการเจริญเติบโตเป็นต้นกล้วยขนาดเล็กได้ภายในเวลา 2 เดือน เมื่อนำต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมาตัดแบ่งเป็น 2 ส่วน ตามยาว และ ย้ายลงเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ปราศจากน้ำมะพร้าว พบว่าภายในเวลา 1 เดือนสามารถเพิ่มปริมาณได้ 2.44 ต้น ต่อจำนวนหน่อ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง 1 หน่อ

กวี (2533) ได้ศึกษาผลของ NAA และผงถ่าน ที่เหมาะสมต่อการเกิดรากและการเจริญเติบโต ของต้นอ่อนกล้วยพันธุ์ Grand Nain พบว่า สูตรอาหาร MS ที่เติม NAA 0.5 mg/lร่วมกับผงถ่าน 1 กรัมต่อลิตร จะเหมาะสมต่อการเกิดรากและรากเจริญเติบโตของต้นอ่อนมากที่สุด

สุภาพร (2532) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไข่ ได้มีการนำปลายยอดกล้วยไข่มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15% ผงถ่าน 1 mg/1 และ BA 10 mg/1 พบว่ามีการเพิ่มขนาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แตกหน่อและ มีการพัฒนาต้นที่แข็งแรงพร้อมรากภายในเวลา 6 สัปดาห์ และ เมื่อนำเอาต้นที่ได้มาตัดแบ่งเป็น 2 ส่วน นำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15% BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณหน่อจากเดิม 1 ต้น เป็น 24 ต้น ภายในเวลา 3 เดือน

ประภาสินี (2529) ได้ศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงและการเพิ่มปริมาณของกล้วย Bungulan ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารที่เหมาะสม คือ pH 5.6 สารเร่งการเจริญเติบโต กลุ่ม Cytokinin ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณหน่อคือ น้ำมะพร้าว 20% หรือ 5 mg/l หรือ Kinetin 2.5 mg/l ส่วนสารเร่งการเติบโตกลุ่ม Auxins ที่เหมาะสมต่อการเกิดรากคือ IAA หรือ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 1 mg/l

Berg and Bustamante (1974) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเจริญจากเหง้ากล้วยที่ผ่านความร้อนช่วงเวลาหนึ่ง เพื่อสร้างต้นที่ปราศจากไวรัสโดยเลี้ยงบนอาหารสูตรดัดแปลงของ Knudson (1946) ซึ่งเติม NAA 1μg /ml. เพื่อชักนำให้เกิดราก

De Guzman *et al.* (1980) ทำการเลี้ยงปลายยอดของกล้วยพันธุ์ Lacatan โดยการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย calcium hypochlorite แล้วนำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15% และ BA 5 ppm พบว่าในการตัดแบ่ง และ ย้ายอาหารครั้งที่ 1 และ 2 การเพิ่มปริมาณเป็นไปได้ช้ามาก แต่ในครั้งที่ 3 และ 4 การเพิ่มปริมาณเป็นไปได้อย่างรวดเร็ว

Swamy *et al.* (1983) พบว่าปลายยอดของกล้วย Robusta ที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15% ร่วมกับ BA 10 mg/l และ IBA 5 mg/l จะเจริญเป็นต้นเดี่ยว ถ้าไม่มีการตัดแบ่งปลายยอดนั้น แต่ถ้าแบ่งตาข้างที่พักตัวตามซอกใบ จะเจริญเพิ่มปริมาณได้มากกว่า 35 หน่อ เมื่อเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15% และ BA 10 mg/l เมื่อต้องการให้เกิดรากก็ย้ายลงบนอาหารที่เติม IBA 5 mg/l

Cronauer and Krikorian (1984) ได้ทำการศึกษาเลี้ยงปลายยอดของกล้วย 4 พันธุ์ บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 mg/l ทำการย้ายอาหารทุก 4 สัปดาห์ พบว่า กล้วยแต่ละพันธุ์มีการเพิ่มปริมาณได้ไม่เท่ากันและการเติม IAA หรือ NAA 1 mg/l ร่วมกับ activated charcoal 0.025% ลงในอาหารจะช่วยให้การเกิดรากดีขึ้น ต้นที่ได้สามารถย้ายออกปลูกได้ภายในเวลา 2 สัปดาห์

Hwang *et al.* (1984) พบว่า การนำต้นอ่อนของกล้วยมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม activated charcoal 1 กรัมต่อลิตร จะชักนำให้เกิดรากได้ดีขึ้น คือจะมีจำนวนรากต่อต้นประมาณ 3.58 ราก ในสัปดาห์ที่ 4

Cronauer and Krikorian (1985) ได้รายงานว่าการเพิ่มปริมาณยอดของกล้วยพันธุ์ Dwarf cavendish โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยนำตลอดมาเลี้ยงบนสูตรอาหารดัดแปลง MS โดยเติม inositol 5.5 mM, thiamine HCl 2.97 μM น้ำตาลซูโครส 0.12 M น้ำมะพร้าว 10% (v/v) และ BA 22 μM แล้วนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว เพื่อชักนำให้หน่อเป็นสีเขียว หลังจากนั้นทำการเพิ่มยอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยการย้ายลงในอาหารกึ่งเหลวกึ่งแข็ง แล้วทำให้เกิดรากโดยเลี้ยงในอาหารที่แข็งที่เติม NAA 5.5 μM และ activated charcoal 0.025%

Jarret *et al.* (1985) รายงานว่าเมื่อเลี้ยงปลายยอดของกล้วยพันธุ์ Pelipita และ Saba บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 mg/1 ร่วมกับ IAA 1 mg/1 ขนาดของเนื้อเยื่อที่เพิ่มขึ้น 3-5 เท่าของขนาดเริ่มต้นในเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อทำการตัดแบ่ง และย้ายลง เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 mg/1 ทุก 4-6 สัปดาห์ ยอดเล็ก ๆ จะเพิ่มขึ้นได้ 16 ยอดจากชิ้นส่วน 1 ชิ้น แต่ถ้าเก็บไว้ 4 และ 8 เดือนยอดจะเพิ่มเป็น 22 และ 31 ยอดตามลำดับเมื่อต้องการให้เกิดรากก็ย้ายลงเลี้ยงบนอาหารสูตร MS

Vuylsteke *et al.* (1988) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกล้วยพันธุ์ Agbagba โดยเลี้ยงในอาหารสูตร MS ร่วมกับ NAA 0.19 mg/l และ BA 0.23 mg/l ภายในเวลา 2-3 เดือน สามารถชักนำให้เกิดรากที่มีความยาว 1-4 ซม. และนำออกมาปลูกได้ในเวลาต่อมา

Malamug *et al.* (1991) ได้ศึกษาถึงการเพิ่มปริมาณต้นขิงจากแคลลัส พบว่า อาหาร MS ที่เติม NAA 1 mg/l สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดี

Nathan *et al.* (1992) ได้ประสพผลสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ Heliconia พันธุ์ *Heliconia psittacorum* L.F. โดยการใช้ชิ้นส่วนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ ตาข้าง หรือหน่อซึ่งเกิดจากเหง้าโดยนำตาที่ได้มาผ่านน้ำสะอาดประมาณ 15 นาที และนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วย ethanol 80% 30 นาที หลังจากนั้นล้างด้วย NaOCl 0.8% นาน 15 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที ตัดชิ้นส่วนเหลือประมาณ 3 ลบ.มม. ก่อนจะนำมาเลี้ยงในอาหารให้ฟอกฆ่าเชื้ออีกครั้งด้วย NaOCl 0.4% 10 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วจึงนำมาเลี้ยงในสูตรอาหาร MS โดยใส่ BA 40 μM น้ำมะพร้าว 150 μml/1 น้ำตาลซูโครส 30 g/1 และ Gelrite 2 g/1 ส่วนสูตรอาหารที่เลี้ยงให้เกิดการเพิ่มจำนวนยอด คือ สูตรอาหาร MS ที่ไม่ใส่น้ำมะพร้าว และ เติม BA 10 μM สำหรับอาหารที่ทำให้เกิดรากได้เลี้ยงไว้ในสูตรอาหารดัดแปลง MS ที่ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต หลังจากนั้นแล้วจึงปรับสภาพของต้นไม้ให้คุ้นเคยกับการเพาะชำในเรือนกระจก

Benomyl เป็นสารกำจัดเชื้อราอยู่ในกลุ่ม Benzimidazole ซึ่งเป็นยากำจัดเชื้อราชนิดดูดซึม (systemic fungicides) พิษของ Benomyl กว้างโดยเฉพาะใช้กับโรคทางใบ ราก และหัว เชื้อสาเหตุ คือเชื้อในดิน (soil borne) และพบว่า Benomyl จะมีพิษเมื่อละลายน้ำ (ธรรมศักดิ์,2528)

การทดสอบความสามารถของยากำจัดเชื้อราในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า Benomyl ที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/1 ในอาหารแข็งสูตร MS + Sucrose 3% หลังจากการสังเกตเป็นเวลานาน 3 สัปดาห์ พบว่า Benomyl มีคุณสมบัติในการกำจัดเชื้อราในกลุ่มของ Penicilum (monoverticillate) , Paecilomyces , Actinomyces , Dematiaceous hyphomycete , Mycelia sterile , Unidentified sporulating fungi และAscomycete พบว่า Benomyl ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยาสูบ ที่ระดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นต่ำในอาหารแข็งสูตร MS+sucrose+ BAP 0.5 mg/1 + วุ้น 0.9%จะกระตุ้นการเกิดแคลลัสและในอาหารเหลวสูตร MS+ sucrose 3% จะยับยั้งการเกิดราก (Shield *et al.*,1984)

Rifampicin เป็นสารปฏิชีวนะ มีคุณสมบัติกำจัดเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวก (Gram +) และ แกรมลบ (Gram -) และในกลุ่มไมโครแบคทีเรียซึ่งระดับความเข้มข้นที่ 15 µg/ml จะเป็นอันตราย ต่อพวก microbes และจะเป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อพืชที่ระดับความเข้มข้น 25µg/ml สารที่ใช้เป็นตัวทำลาย Rifampicin คือ Ethanol และ Chloroform (Anonymous,1994)

Cefotaxime เป็นสารปฏิชีวนะ มีคุณสมบัติกำจัดแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวก (Gram+) และ แกรมลบ (Gram-) พบว่า Cefotaxime ที่ระดับความเข้มข้น 90/µg/ml เป็นอันตรายต่อ Microbes และที่ระดับความเข้มข้น 100µg/ml จะเป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อพืช สารที่ใช้เป็นตัวทำละลาย Cefotaxime คือ น้ำกลั่น (Anonymous,1994)

การใช้สารปฏิชีวนะเพื่อขจัดเชื้อแบคทีเรียในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้เนื้อแข็ง พบว่าการใช้ Rifampicin ที่ระดับความเข้มข้น 25 ,50 และ 100 mg/1 เขย่าด้วยอัตรา 50 รอบ/นาที ในอาหารเหลวดัดแปลง Schenk and Hildebrandt เป็นเวลา 5 วันในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแอ๊ปเปิ้ล , Rhododendron และ Douglas-fir พบว่าไม่มีอันตรายต่อเนื้อเยื่อ (Phytotoxic) แอ๊ปเปิ้ลและ Rhododendron แต่พบว่าจะเกิดอันตรายรุนแรงต่อเนื้อเยื่อ Douglas-fir (Young *et al.*,1984)

การใช้สารปฏิชีวนะในการขจัดเชื้อแบคทีเรียในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไม้เนื้อแข็ง พบว่า การใช้สารปฏิชีวนะร่วมกัน 4 ชนิด ได้แก่ Cefotaxime 25 mg/1 + Tetracycline 25 mg/1 + Rifampicin 6 mg/1 + Polymyxi n B 6 mg/1 ในอาหารเหลวสูตร Schenk and Hildebrandt นาน 24 ชั่วโมง พบว่าสามารถขจัดเชื้อแบคทีเรียและทำให้ชิ้นส่วน แอปเปิ้ล , Rhododendron และ Douglas-fir ปลอดเชื้อ 100,12 และ 100% ตามลำดับ (Young *et al.*,1984)

การใช้สารปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Helianthus tuberosus* ในการขจัดเชื้อแบคทีเรียที่หัว พบว่าการใช้ Rifampicin ที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 50 µg/ml จะสามารถขจัดเชื้อแบคทีเรียที่ติดมากับหัวและเชื้อ Pseudomonas fluorecens ได้ 33.33 และ 100% ตามลำดับเมื่อเทียบกับ control และพบว่าการใช้ Rifampicin ที่ระดับความเข้มข้น 50 µg/ml จะไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ดอกทานตะวันเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารที่มี Rifampicin 50 µg/ml เป็นเวลานาน 24 , 48 และ 72 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับ control (Phillips *et al.*,1981)

การใช้สารปฏิชีวนะในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Picea glauca* ในอาหารที่มี Cefotaxime ที่มีระดับความเข้มข้น 100 และ 200 µg/ml นาน 2 วัน จะทำให้จำนวนการเจริญเติบโตของตาดัพภะมีเปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้น 100% และพบว่าการเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารที่มี Cefotaxime นาน 9 วัน จะทำให้จำนวนดัพภะที่มีเจริญเติบโต 100 และ 65 % ตามลำดับ และพบว่าการใช้ Cefotaxime ที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 200µg/ml ไม่เกิดอันตรายต่อเนื้อเยื่อ *Picea glauca* (Tsang *et al.*,1989)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้สารปฏิชีวนะ Cefotaxime ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวบาร์เล่ย์จำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ apex, blenheim , everest และ porter พบว่าการใช้ Cefotaxime จะมีผลต่อการเจริญเติบโตและการเพิ่มปริมาณของแคลลัส และพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 60μg/ml จะทำให้เกิดปริมาณแคลลัสของข้าวบาร์เล่ย์สูงสุด 3 สายพันธุ์ apex , blenheim และ everest ส่วนสายพันธุ์ porter จะมีการเพิ่มปริมาณแคลลัสสูงสุด ที่ระดับความเข้มข้น 100μg/ml (Mathias and Mukasa,1987)

การใช้ Benomyl ร่วมกับ Rifampicin ในอาหารเหลวสูตร Murashige & Skoog Minimal Organics (MSMO) เขย่าด้วยอัตราเร็ว 100/นาที นาน 24 ชั่วโมง ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชา 2 สายพันธุ์ เพื่อขจัดการปนเปื้อน พบว่าการใช้ Benomyl 1 g/1 ร่วมกับ Rifampicin 10 mg/1 จะสามารถขจัดเชื้อที่ติดมากับชิ้นส่วน *Camellia sinensis* ให้ปลอดเชื้อได้ 95% และการใช้ Benomyl 4 g/1 ร่วมกับ Rifampicin 25 mg/1 จะสามารถขจัดเชื้อที่ติดมากับชิ้นส่วน *C. japonica* ให้ปลอดเชื้อได้ 85.5 % (Haldeman *et al.*,1987)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

สิ่งทดลอง

1. เฮลิโคเนีย 2 พันธุ์คือ

1.1 *Heliconia stricta* cv. dwarf jamaican

1.2 *Heliconia psittacorum* cv. golden torch

2. อาหารดัดแปลง Murashige and Skoog (1962) โดยใช้ Thiamine 0.5 mg/l, NaH_2PO_4 170 mg/l, adenine sulphate 80 mg/l และน้ำมะพร้าว 150 ml/l

<u>การทดลองที่ 1</u> การศึกษาการใช้สารปฏิชีวนะร่วมกับสารกำจัดเชื้อราในการควบคุมการปนเปื้อนของชิ้นส่วนเริ่มต้น

นำหน่อเฮลิโคเนีย ที่มีขนาด 3-5 ซม. มาผ่านน้ำไหลนานอย่างน้อย 30 นาที แล้วนำไปฟอกฆ่าเชื้อตามขั้นตอนดังนี้ ethanol 70% นาน 1 นาที ตามด้วย mercuric chloride 0.1% + Tween 20 2 หยด นาน 10 นาที และตามด้วย calcium hypochlorite 5% + Tween 20 2 หยด นาน 10 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที แล้วนำชิ้นส่วนมาตัดให้มีตาขนาดประมาณ 1-2 มม. แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร ดัดแปลง MS (1962) ร่วมกับสารปฏิชีวนะ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 2 การทดลองย่อยคือ

<u>การทดลองที่ 1.1</u> ศึกษาผลของ Rifampicin และ Benomyl โดยทำการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design 3 ซ้ำ ๆ ละ 3 ชิ้นส่วน โดยให้ความเข้มข้นของ Rifampicin เป็น Factor A มี 4 ระดับคือ 0, 10, 15 และ 20 mg/l และความเข้มข้นของ Benomyl เป็น Factor B มี 3 ระดับ คือ 0, 25, 50 mg/l

<u>การทดลองที่ 1.2</u>ศึกษาผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl โดยทำการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design 4 ซ้ำ ๆ ละ 3 ชิ้นส่วน โดยให้ความเข้มข้นของ Cefotaxime เป็น Factor A มี 3 ระดับคือ 0, 25 และ 50 mg/l และความเข้มข้นของ Benomyl เป็น Factor B มี 3 ระดับคือ 0, 25 และ 50 mg/l

<u>การทดลองที่ 2</u> ศึกษาผลของ NAA ร่วมกับ BA ต่อการเจริญเติบโตของตายอดเฮลิโคเนีย โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design 3 ซ้ำ โดยให้ความเข้มข้นของ BA เป็น Factor A มี 4 ระดับ คือ 0, 5, 10 และ 15 mg/l และความเข้มข้นของ NAA เป็น Factor B มี 3 ระดับ คือ 0, 0.1 และ 1 mg/l

<u>การทดลองที่ 3</u> ศึกษาผลของ BA ร่วมกับ NAA และ IAA และผงถ่าน ต่อการเพิ่มปริมาณยอดและรากของเฮลิโคเนีย โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial in Randomized Block Design 3 ซ้ำ โดยให้ความเข้มข้นของผงถ่านเป็น Factor A มี 2 ระดับ คือ 0 และ 0.2% และความเข้มข้นของ auxin เป็น Factor B มี 7 ระดับคือ NAA 0, 0.5, 1 และ 1.5 mg/l และ IAA 0.5,1.0,1.5 mg/l

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดลองที่ 1.1

หลังจากทำการเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารที่มี Rifampicin และ Benomyl อยู่ 8 สัปดาห์ พบว่าผลร่วมของ Rifampicin และ Benomyl ไม่มีผลแตกต่างทางสถิติ ต่อ % ชิ้นส่วนปนเปื้อน แต่อาหารที่มี Benomyl เข้มข้น 50 mg/l ร่วมกับ Rifampicin 15 mg/l และอาหารที่ม Benomyl 50 mg/l ร่วมกับ Rifampicin 20 mg/l ทำให้มีการปนเปื้อนน้อยที่สุด คือ 22.22% เท่ากัน (ตารางที่ 3) และ Benomyl มีผลต่อการควบคุมการปนเปื้อนแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยอาหารที่มี Benomyl เข้มข้น 50 mg/l มีชิ้นส่วนปนเปื้อนน้อยที่สุดคือ 47.22% (ตารางที่ 1) ส่วน Rifampicin ไม่มีผลต่อการควบคุมการปนเปื้อน นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารที่มี Rifampicin ทำให้ยอดมีลักษณะหงิกงอกาบใบไหม้ เป็นสีน้ำตาล ทั้งนี้จากรายงานของสายสมร (2524) รายงานว่า Rifampicin เป็นสารปฏิชีวนะที่สกัดขึ้นโดย *Streptomyces mediterranli* ซึ่งสารกลุ่มนี้มีผลต่อต้านแบคทีเรียแกรมบวก และ *Mycobacterium tuberlusis* แต่มีผลน้อยต่อแบคทีเรียแกรมลบ จึงเป็นไปได้ว่า Rifampicin มีประสิทธิภาพไม่เพียงพอต่อการกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่ติดมากับชิ้นส่วน นอกจากนี้ Rifampicin มีผลในการยับยั้งจำเพาะกับการสังเคราะห์ RNA ซึ่งทำให้รบกวนการทำงานของ enzyme ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิค ของเนื้อเยื่อพืช จึงทำให้ชิ้นส่วนพืชมีการเจริญเติบโตผิดปกติ

หลังจากเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารที่มี Rifampicin และ Benomyl อยู่ 8 สัปดาห์ จึงย้ายชิ้นส่วนลงในอาหารที่ไม่มี Rifampicin และ Benomyl และทำการเลี้ยงต่ออีก 4 สัปดาห์ (ชิ้นส่วนมีอายุ 12 สัปดาห์) พบว่าชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี Rifampicin 15 mg/l และ Benomyl 50 mg/l ชิ้นส่วนมีการปนเปื้อนน้อยที่สุด คือ 22.22% แต่เนื่องมาจากสารทั้งสองชนิด มีผลตกค้างอยู่ทำให้ชิ้นส่วนไม่เจริญเติบโตและตายในที่สุด (ตารางที่ 4) ถึงแม้ว่าชิ้นส่วนที่เคยเลี้ยงบนอาหารที่มี Benomyl 50 mg/l เพียงอย่างเดียว ทำให้ชิ้นส่วนมีการ ปนเปื้อนถึง 66.67% แต่ชิ้นส่วนสามารถเจริญเติบโตเป็นปกติมากที่สุดคือ 22.22% และมีชิ้นส่วนตายเพียง 11.11% เท่านั้น (ตารางที่ 4) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Yang (1976) ซึ่งทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน่อไม้ฝรั่งพบว่า Benomyl เข้มข้น 10-15 mg/l นอกจากไม่ยับยั้งการเจริญเติบโตแล้วยังสามารถกระตุ้นการเพิ่มปริมาณยอดของหน่อไม้ฝรั่งอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ผลของ Rifampicin ร่วมกับ Benomyl ที่มีการปนเปื้อนของชิ้นส่วนเฮลิโคเนีย เมื่อชิ้นส่วนอายุ 8 สัปดาห์

Rifampicin (mg/l)	% ชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อน ระดับความเข้มข้นของ Benomyl (mg/l)			ค่าเฉลี่ย
	0	25	50	
0	88.89 ± 5.24	88.89 ± 5.24	66.67 ± 0.00	81.48 ± 3.49
10	66.67 ± 9.07	44.44 ± 5.24	77.78 ± 5.24	63.96 ± 4.63
15	66.67 ± 9.07	88.89 ± 5.24	22.22 ± 5.24	59.62 ± 9.24
20	55.56 ± 2.24	66.67 ± 9.07	22.22 ± 5.24	48.15 ± 6.30
ค่าเฉลี่ย*	69.45 ± 3.03^{ab}	72.22 ± 4.691^{a}	47.22 ± 6.33^{c}	64.33 ± 4.24

ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

ตารางที่ 4 แสดงการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่มี Rifampicin และ Benomy เมื่อชิ้นส่วนอายุ 12 สัปดาห์

Rifampicin (mg/l)	Benomyl (mg/l)	% ชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อน	% ชิ้นส่วนตาย	%ชิ้นส่วนรอดแสดงการเจริญเติบโตผิดปกติ	% ชิ้นส่วนรอดแสดงการเจริญเติบโตปกติ
0	0	88.89	11.11	0.00	0.00
0	25	88.89	0.00	0.00	11.11
0	50	66.67	11.11	0.00	22.22
10	0	77.78	22.22	0.00	0.00
10	25	55.56	22.22	22.22	0.00
10	50	77.78	22.22	0.00	0.00
15	0	66.67	22.22	11.11	0.00
15	25	88.89	11.11	0.00	0.00
15	50	22.22	77.78	0.00	0.00
20	0	55.56	44.44	0.00	0.00
20	25	66.67	33.33	0.00	0.00
20	50	22.22	77.78	0.00	0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 1.2

ผลของ Cefotaxime และ Benomyl ที่มีต่อการปนเปื้อนของชิ้นส่วนเฮลิโคเนียที่เลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์ พบว่า % การปนเปื้อน % ชิ้นส่วนตาย และ % ชิ้นส่วนเจริญเติบโตไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่อาหารที่มี Cefotaxime 25 mg/l และ Benomyl 50 mg/l ไม่ทำให้ชิ้นส่วนตายเลย ชิ้นส่วนสามารถเจริญเติบโตในอาหารที่ไม่มี Cefotaxime และ Benomyl และเลี้ยงต่อไปอีก 5 สัปดาห์ (ชิ้นส่วนมีอายุ 12 สัปดาห์) แล้วทำการวัดผลการทดลองพบว่าได้มีการปนเปื้อนเพิ่มขึ้นในบางวิธีการ แต่ทุกวิธีการไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 5) และอาหารที่มี Cefotaxime 50 mg/l และ Benomyl 50 mg/l มี % ชิ้นส่วนตายน้อยที่สุด คือ 8.33% ซึ่งน้อยกว่าอาหารที่มี Cefotaxime 25 mg/l และ Benomyl 50 mg/l แต่อาหารนี้ทำให้ชิ้นส่วนเจริญเติบโตได้ดีโดยมีคะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตถึง 5 คะแนน (ตารางที่ 6) ซึ่งมากกว่าอาหารชนิดอื่น ๆ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองที่1 พบว่า Benomyl ไม่ยับยั้งการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน นอกจากนี้จะเห็นได้ว่า Cefotaxime มีส่วนส่งเสริมการเจริญเติบโตมากกว่ายับยั้งการเจริญเติบโตดังเช่น Rifampicin ในการทดลองที่ 1 ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Tsang *et al.*(1989) พบว่า Cefotaxime ทำให้คัพภะของ *Picea glauca* เจริญเติบโตได้ 100 %

ตารางที่ 5 ผลของ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl ที่มีต่อการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนเมื่ออายุ 7 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ		% ชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อน	% ชิ้นส่วนตาย	% ชิ้นส่วนเจริญเติบโต
Cefotaxime (mg/l)	Benomyl (mg/l)			
0	0	58.34	0.00	41.66
0	25	41.67	41.67	16.66
0	50	58.34	25.00	16.66
25	0	75.00	8.33	16.67
25	25	58.34	33.33	8.33
25	50	41.67	0.00	58.33
50	0	41.67	16.67	41.66
50	25	66.67	16.67	16.67
50	50	58.34	0.00	41.66
F-test		NS	NS	NS
C.V. (%)		39.59	65.29	57.32

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 แสดงการปนเปื้อนและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนหลังจากย้ายลงในอาหารที่ไม่ Cefotaxime ร่วมกับ Benomyl เมื่อชิ้นส่วนอายุ 12 สัปดาห์

Cefotaxime (mg/l)	Benomyl (mg/l)	% ชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อน	% ชิ้นส่วนตาย	% ชิ้นส่วนเจริญเติบโต
0	0	58.34	16.66	25.00
0	25	50.00	50.00	0.00
0	50	75.00	8.33	16.67
25	0	75.00	8.33	16.67
25	25	75.00	16.67	8.33
25	50	50.00	8.33	41.67
50	0	58.34	16.66	25.00
50	25	75.00	16.67	8.33
50	50	66.67	8.33	25.00
F-test		NS	NS	NS
C.V. (%)		26.20	72.42	63.05

NS ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 7 ผลของ Cefotaxime และ Benomyl ต่อคะแนนการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน เฮลิโคเนีย

Cefotaxime (mg/l)	Benomyl (mg/l)	คะแนนเฉลี่ยการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน[a]	
		อายุ 7 สัปดาห์	อายุ 12 สัปดาห์
0	0	1.40	2.00
0	25	2.50	0.00
0	50	3.00	3.50
25	0	2.00	1.50
25	25	2.00	3.00
25	50	1.86	2.00
50	0	2.4	4.67
50	25	1.5	2.00
50	50	2.0	5.00

[a] หลักเกณฑ์การให้คะแนน

คะแนน 1: ตามีลักษณะสดสีเขียว

คะแนน 2: ตามีการเจริญเติบโตและยอดมีสีเขียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คะแนน 3: ตาเกิดแคลลัสที่ฐานมีการเจริญเติบโตของยอดสีเขียว

คะแนน 4: เกิดยอดสีเขียวและใบเริ่มคลี่

คะแนน 5: เกิดยอดสีเขียวและแคลลัสและเกิดราก

การทดลองที่ 2

หลังจากนำชิ้นส่วนตามาเลี้ยงบนอาหารสูตรดัดแปลงMS ที่มี BA และ NAAความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าชิ้นส่วนเริ่มเกิดแคลลัส เมื่อสัปดาห์ที่ 5 (ภาพที่2) และพบว่าอาหารทุกชนิดยกเว้นอาหารที่ไม่มี BA และ NAA ทำให้ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส และเมื่อชิ้นส่วนมีอายุ 8 สัปดาห์ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA 5 mg/l และ NAA 0.1 mg/l มีคะแนนการเจริญเติบโตดีที่สุด และเกิดแคลลัสทุกชิ้นส่วน (ตารางที่ 8) ดังนั้นความสมดุลย์ที่เหมาะสมของ BA และ NAA ย่อมมีผลต่อการเจริญเติบโตตาเฮลิโคเนีย ดังที่ Skoog (1975) ได้กล่าวไว้ว่าความเข้มข้นของ BA ในสัดส่วนที่มากกว่า NAA โอกาสเกิดแคลลัสมากกว่าดังรายงานของ เบญจมาศและ Gamborg (2529) ที่ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย

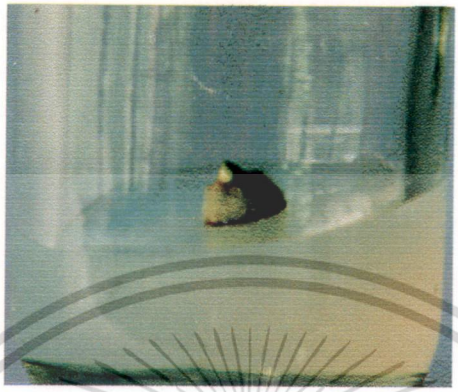
ตารางที่ 8 ผลของ BA และ NAA ต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน เฮลิโคเนีย

BA (mg/l)	NAA (mg/l)	คะแนนการเจริญเติบโต*[a] (±S.E.)	% การเกิด Callus
0	0	2.00 ± 0.00 e	0
5	0.1	3.00 ± 0.00 a	100.00
10	1	2.67 ± 0.47 abc	77.78
15	0	2.22 ± 0.16 cde	67.67
0	0.1	2.11 ± 0.16 de	22.22
5	1	2.89 ± 0.16 a	88.89
10	0	2.89 ± 0.16 a	66.67
15	0.1	2.33 ± 0.00 bcde	11.11
0	1	2.67 ± 0.27 abc	55.56
5	0	2.78 ± 0.32 ab	88.89
10	0.1	2.33 ± 0.27 bcde	66.67
15	1	2.56 ± 0.42 abcd	3.33

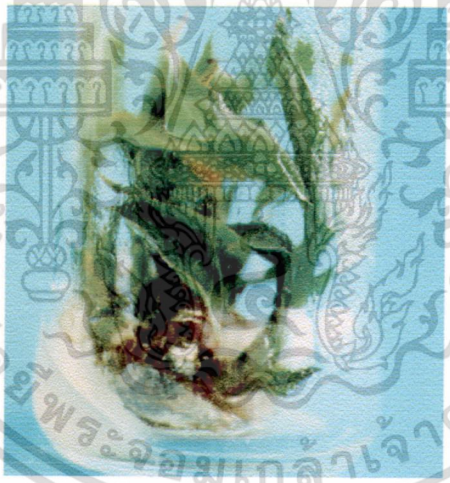
* ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

[a]หลักเกณฑ์การให้คะแนน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 ตายอดเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มี BA 5 mg/l และ NAA 0.1 mg/l เกิดแคลลัส



ภาพที่ 3 ตายอดเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มี BA 5 mg/l และ NAA 1.5 mg/l เกิดยอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คะแนน 1: ตาเปลี่ยนเป็นสีเหลืองซีด

คะแนน 2: ตามีสีเขียวมีการขยายตัวมากขึ้นแ ต่รอบ ๆ ชิ้นส่วนเป็นสีน้ำตาล

คะแนน 3: ตามีสีเขียวมียอดเกิดขึ้น มีแคลลัสสีเหลืองเกิดขึ้นรอบ ๆ ฐานชิ้นส่วน

การทดลองที่ 3

จากการนำชิ้นส่วนเฮลิโคเนีย ที่ได้จากการทดลองที่ 3 มาเลี้ยงบนอาหารสูตรดัดแปลง MS ที่มี BA 5 mg/l และเติม NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 mg/l หรือ IAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 mg/l ร่วมกับผงถ่าน 0% และ 2% พบว่ามีการแตกยอดเพิ่มขึ้นเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนได้ 1 เดือน และเมื่อชิ้นส่วนอายุ 2 เดือน อาหารพื้นฐานที่มี NAA 1.5 mg/l ทำให้ชิ้นส่วนเกิดรากและยอดดีที่สุด โดยเพิ่มยอดเฉลี่ย 2.22 ยอด และมีราก 6-9 ราก ในขณะที่อาหารที่ไม่มี auxin มียอดเฉลี่ย 0.99 ยอด มีราก 1-5 ราก หลังจากนั้นชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตและมีการแตกยอดเพิ่มขึ้น โดยเมื่อสิ้นสุดเดือนที่ 5 ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี NAA 1.0 mg/l และไม่เติมผงถ่าน ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตดีกว่าการเติมผงถ่านโดยเกิดยอดเฉลี่ย 3.00 ยอด และมียอดยาวเฉลี่ย 2.6 ซม. (ตารางที่ 9,10) ซึ่งให้จำนวนยอดใกล้เคียงกับอาหารที่มี NAA 1.5 mg/l คือ 3.05 ยอด(ภาพที่3) แต่ยอดยาว 3.40 ซม. นอกจากนี้ยังทำให้เกิดรากมากที่สุดอีกด้วย โดยเกิดรากเฉลี่ย 20.77 ราก และมีความยาวรากเฉลี่ย 4.02 ซม.(ตารางที่11,12) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ อัมพา (2536) ซึ่งทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าแฝก และไผ่ตงดำ พบว่า NAA 1.5 mg/l สามารถชักนำให้เกิดรากจำนวนมาก และรายงานของ สุเม (2537) ที่พบว่า NAA 1.5 mg/l สามารถชักนำให้ขิงแดงเกิดรากมากที่สุด

ตารางที่ 9 ผลของ BA ร่วมกับ auxin และผงถ่านต่อการเกิดต้นของเฮลิโคเนีย เมื่ออายุ 5 เดือน

Auxin(mg/l)	จำนวนหน่อ(±SE)		ค่าเฉลี่ย**(±SE)
	ผงถ่าน 0%	ผงถ่าน 0.2%	
NAA 0	2.44 ± 0.70	0.83 ± 0.13	1.63 ± 0.48 bcd
NAA 0.5	1.39 ± 0.16	0.94 ± 0.27	1.16 ± 0.08 d
NAA 1.0	3.05 ± 0.27	1.66 ± 0.41	2.36 ± 0.37 abc
NAA 1.5	3.00 ± 0.15	2.61 ± 0.78	2.80 ± 0.40 a
IAA 0.5	1.00 ± 0	1.66 ± 0.15	1.33 ± 0.15 cd
IAA 1.0	2.11 ± 0.55	1.39 ± 0.16	13.75 ± 0.32 bcd
IAA 1.5	2.55 ± 0.55	2.66 ± 0.31	2.61 ± 0.31 ab
ค่าเฉลี่ย*** (±SE)	2.22 ± 0.21 a	1.68 ± 0.20 b	1.95 ± 0.15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองนี้พบว่า การเติมผงถ่านไม่ช่วยในการเกิดรากและบางวิธีการยังทำให้การเกิดรากลดลงอีกด้วย (ตารางที่11,12) อาจเนื่องจากผงถ่านมีผลในการดูดซับสารควบคุมการเจริญเติบโต (Conger, 1981) จึงทำให้ปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตไม่เพียงพอต่อการเกิดราก และ NAA จะให้ผลดีกว่า IAA เมื่อมีผงถ่าน ทั้งนี้ Conger (1981) กล่าวว่า IAA สามารถสร้างพันธะกับผงถ่านได้เร็วกว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตตัวอื่น ๆ ดังนั้นในวิธีการที่มี IAA จึงทำให้ผลการออกรากได้ด้วยกว่าวิธีการที่มี NAA

ตารางที่ 10 ผลของ BA ร่วมกับ auxin และผงถ่านต่อความสูงของต้นเฮลิโคเนีย เมื่ออายุ 5 เดือน

Auxin (mg/l)	ความสูงของต้น (±SE)		ค่าเฉลี่ย ** (±SE)
	ผงถ่าน 0%	ผงถ่าน 0.2%	
NAA 0	2.35 ± 0.27	0.96 ± 0.09	1.65 ± 0.31 abcd
NAA 0.5	1.05 ± 0.02	0.61 ± 0.16	0.83 ± 0.12 d
NAA 1.0	2.60 ± 0.24	1.31 ± 0.12	1.95 ± 0.29 ab
NAA 1.5	3.40 ± 0.76	1.19 ± 0.25	2.29 ± 0.06 a
IAA 0.5	1.46 ± 0.18	0.73 ± 0.09	1.09 ± 0.22 cd
IAA 1.0	1.13 ± 0.29	1.00 ± 0.17	1.15 ± 0.18 bcd
IAA 1.5	2.06 ± 0.41	1.32 ± 0.15	1.69 ± 0.46 abcd
ค่าเฉลี่ย***(±SE)	2.03 ± 0.22 a	1.01 ± 0.08 b	1.52 ± 0.14

ตารางที่11 ผลของ BA ร่วมกับ auxin และผงถ่านต่อจำนวนรากของเฮลิโคเนียเมื่ออายุ 5 เดือน

Auxin (mg/l)	จำนวนราก* (±SE)		ค่าเฉลี่ย ** (±SE)
	ผงถ่าน 0%	ผงถ่าน 0.2%	
NAA 0	5.22 ± 1.01 *cde*	1.33 ± 0.27 *f*	3.27 ± 0.95 de
NAA 0.5	4.05 ± 0.88 *def*	0.61 ± 0.16 *f*	2.33 ± 0.83 d
NAA 1.0	9.44 ± 1.48 *b*	2.77 ± 0.5 def	6.11 ± 1.29 b
NAA 1.5	20.77 ± 1.19 *a*	2.83 ± 0.49 *def*	11.80 ± 3.71 a
IAA 0.5	2.33 ± 0.36 *def*	1.55 ± 0.45 *ef*	1.94 ± 0.33 e
IAA 1.0	5.94 ± 1.00 *cd*	2.61 ± 0.63 *def*	4.27 ± 0.90 cd
IAA 1.5	8.22 ± 0.96 *bc*	2.44 ± 0.24 *def*	5.33 ± 1.26 bc
ค่าเฉลี่ยผงถ่าน***(±SE)	7.99 ± 1.29 a	2.03 ± 0.23b	5.01 ± 0.80

ลิขสิทธิ์นี้เป็นของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ไว้สำหรับใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12 ผลของ BA ร่วมกับ auxin และผงถ่าน ต่อความยาวรากของเฮลิโคเนีย เมื่ออายุ 5 เดือน

Auxin (mg/l)	ความยาวราก (±SE)		ค่าเฉลี่ย ** (±SE)
	ผงถ่าน 0%	ผงถ่าน 0.2%	
NAA 0	3.37 ± 0.18	1.62 ± 0.45	2.49 ± 0.43 cde
NAA 0.5	2.41 ± 0.19	1.07 ± 0.14	1.74 ± 0.30 de
NAA 1.0	4.05 ± 0.07	2.44 ± 0.36	3.24 ± 0.37 bc
NAA 1.5	4.02 ± 0.10	3.48 ± 0.69	3.75 ± 0.36b
IAA 0.5	2.00 ± 0.26	1.33 ± 0.03	1.66 ± 0.18 e
IAA 1.0	3.37 ± 0.28	2.05 ± 0.36	2.71 ± 0.35 cd
IAA 1.5	7.08 ± 0.58	4.05 ± 0.58	5.56 ± 0.74 a
ค่าเฉลี่ย***(±SE)	3.75 ± 0.35 a	2.09 ± 0.27 b	3.02 ± 0.25

* ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรตัวเอียงกำกับต่างกันตาม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<=0.05) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

** ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันตามแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<=0.05) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

*** ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันตามแนวนอน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต (p<=0.05) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

สรุปผลการทดลอง

การเพิ่มปริมาณเฮลิโคเนียโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทำได้โดยฟอกฆ่าเชื้อตายอดด้วย ethanol 70 % นาน 1 นาที ตามด้วย mercuric chloride 0.1 % + tween 20 2 หยด นาน 10 นาที และตามด้วย calcium hypochlorite 5 % + tween 20 2 หยด นาน 20 นาที และ calcium hypochlorite 1 % + tween 20 2หยด นาน 10 นาทีแล้ว ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆละ 5 นาทีแล้วนำตายอดไปเลี้ยงบนอาหารดัดแปลง MS ที่มี Cyfotaxine 50 mg/l ร่วมกับ Benomyl 50 mg/l เป็นเวลา 7-8 สัปดาห์ แล้วจึงย้ายลงอาหารที่ไม่มีสารเหล่านี้ สำหรับการเพิ่มบริมาณยอดนั้นทำได้โดยเลี้ยงตายอดในอาหารสูตรดัดแปลง MS ร่วมกับ BA 5 mg/l และ NAA 0.1 mg/l แล้วย้ายลงอาหารที่มี BA 2.5 mg/l ส่วนการชักนำให้ยอดเกิดรากทำได้โดยย้ายยอดลงเลี้ยงในอาหารสูตรดัดแปลง MS ที่มี NAA 1.5 mg/l

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กัลยาณี อรรถฉัตร,กวิศน์ วานิชกุล และ จุลภาค คุ้นวงศ์.2533. การเติบโตและการเพิ่มปริมาณต้นของต้นกล้วยหอมพันธุ์ Grand Nain โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วารสารวิชาการเกษตรศาสตร์. 8:2-9.

กวี สุจิปุลิ .2533. ผลของ NAA ผงถ่านและความเข้มข้นวุ้น ต่อการเกิดรากและการเจริญเติบโตของต้นอ่อนกล้วยพันธุ์ Grand Nine บนอาหารสังเคราะห์, ปัญหาพิเศษปริญญาโท. ภาควิชาพืชสวน, คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร

จิรายุพิน จันทร์ประสงค์. 2534. เทคโนโลยีการผลิตไม้ดอกไม้ประดับ. สมาคมไม้ประดับแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ. 143-148 น.

จันทร์กระพ้อ. 2534. เฮลิโคเนียไม้ตัดดอกใหม่ของไทย. วารสารเคหเกษตร. 15(10)43-53.

ธรรมศักดิ์ สมมาตย์. 2528. สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช. มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 137 น.

เบญจมาศ ศิลาย้อย และ O.L. Gamborg.2529. การชักนำให้เกิดแคลลัสในกล้วย. วารสารวิชาการเกษตรศาสตร์. 8:181-185.

ปิยา เสียงดัง และ อุเทน หวังเจริญ.2533. การขยายพันธุ์เข็มม่วง แก้วเจ้าจอมและเฮลิโคเนียโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ปัญหาพิเศษ สาขาพืชสวน ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยี พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

ประภาสินี รัตโนภาส. 2529. เทคนิคการขยายพันธุ์กล้วยโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ปัญหาพิเศษปริญญาโท. ภาควิชาพืชสวน. คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สายสมร ลำยอง. 2524. สารปฏิชีวนะละปฏิกริยาการต่อต้านจุลินทรีย์. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่. 87 น.

สุเม อรัญนารถ. 2537. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขิงแดง. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 12 (2) : 63-72.

สุภาพร แก้วสมพงษ์.2532. ผลของ 6-Benzylaminopurine ต่อการเกิดหน่อของกล้วยไข่บนอาหารสังเคราะห์. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

อรดี สหวัชรินทร์ และ ปาริชาต นุกูลการ. 2526. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย. รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 21 ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

อัมพา ว่องวิชชกร.2536. การเพิ่มปริมาณหญ้าแฝกหอมและไผ่ตงดำในสภาพปลอดเชื้อ. รายงานผลการทดลอง สถาบันเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพฯ.

Anonymous. 1994. Detection of pathogens and contaminations of plants & plant cell cultures. Physource 5 (1) : 1-5.

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Berg, L.A. and M. Bustamante. 1974. Heat treatment and meristem culture for the production of virus-free banana. Phytopathology. 64:320-322.

Brochat, T.K. and H.M. Donselman. 1983. Heliconia : A promising new cut flower crop. HortScience 18 (1) : 2.

Conger, B.V. 1981. Cloning agricultural plants via *in vitro* tecniques CRC Press. United States. pp. 273.

Cronauer, S.S. and A.D. Krikoorian.1984. Rapid multiplication of banana and plantains by *in vitro* shoot tip culture. HortScience 19: 235-235.

Cronauer, S.S. and A.D. Krikoorian. 1985. Aseptic multiplication of bananas from excised floral apices. HortScience. 20(4) :770-771.

De. Guzman, E.V. , A.C. Decena. and E.A. Ubalde. 1980. Plantlet regeneration from unirradiated and irradiated banana shoot tip tissues cultured in vitro. Phil. Agr. 63:140-146.

Haldeman,J.H.,R.L. Thomas and D.L. McKamy. 1987. Use of benomyl and rifampicin for *in vitro* shoot tip culture of *Camellia sinensis* and *C. japonica*. HortScience. 22 (2) :306-307.

Hwang, S.C.,C.L.Chen, J.C.L. in and H.L.L. in. 1984. Cultivation of banana using plantlet from meristem culture. HortScience. 19(2):231-233.

Jarret, R.L. , W. Rodriguez and R. Fernandez. 1985. of "Saba" and "Pelipita" plantains in Costa Rica. Scientia Hortic. 25:137-147.

Kress , J.W. 1993. The Classification of Heliconia and its relatives. Bulletin. 6 (3) : 3.

Malamug, J.J.,I. Haruhisa and A. Tadashi. 1991. Plant regeneration and propagation from ginger callus. Scientia Hortic. 48:89-97.

Mathias , R.J. and C. Mukasa. 1987. The effect of cefotaxime on the growth and regeneration of callus from four varieties of barley (Hordeum vulgare L.). Plant Cell Reports. 6: 454-457.

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

Nathan,M.J. ,C.J.Goh and P.P.Kumar.1992. In vitro propogation of *Heliconia psittacorum* by bud culture. HortScince.27(25):450-452.

Phillips, R.,S.M. Arnott and S.E. Kaplan. 1981. Antibiotics in plant tissue culture : Rifampicin effectively controls bacterial contaminants without affecting the growth of short-term explant cultures of *Heliunthus tuberosus*. Plant Science Letters. 21 : 235-240.

Shield. R., S. J. Robinson and P.A. Anslow. 1984. Use of fungicide in plant tissue culture. Plant Cell Reports. 3: 33-36.

เอกสารนี้มีไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Skoog,F. and C.O. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *in vitro*. Symp.Soc. Exptl. Biol. 11:118-130.

Swamy,D.R., N.K. Srinivasa Rao. and E.K. Chacko. 1983. Tissue culture propagation of banana. Scientia Hortic. 18:247-252.

Tsang,K.W.T.,H. David, and D.I. Dunstan. 1989.Toxicity of antibiotic on zygotic embryos of white spruce (*Picea glauca*) cultured in vitro. Plant Cell Reports. 8:214-216.

Vuylsteke,D.,Swennen,R.,Wilson,G.F. and De Langhe,E. 1988. Phenotypic variation among *in vitro* propagated plantain (Musa sp. cultivar 'AAB'). Scientia Hortic. 36:79-88.

Yang, Hsu-Jen. 1976. Effect of benomyl on *Asparagus officinalis* L. shoot and root development in culture media. HortScience. 11(5): 473-474.

Young, P. M., A. S. Hutchins and M. L.Canfield.1984. Use of Antibiotics to control bacteria in shoot cultures of woody plants. Plant Science Letters. 34: 203-209.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขิงแดง

Tissue culture of Red Ginger (*Alpinia purpurata*)

บทคัดย่อ

วิธีการศึกษาวิธีการขยายพันธุ์ขิงแดงโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้ตายอดของเหง้าหรือหน่อที่แตกใหม่ นำตามาเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) (1962) ที่เติม BA (6-benzyladenine) ความเข้มข้นที่ระดับต่างๆ กันคือ 0,1,5,10 และ 15 mg/l พบว่า BA เข้มข้น 5 mg/lเหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนยอดมากที่สุดและอาหาร MS ที่เติม BA 1 mg/l และ NAA 1.5 mg/l ทำให้ยอดเกิดรากดีที่สุด และยังมีการแตกหน่อเพิ่มขึ้นอีกด้วย นอกจากนี้ได้ศึกษาการย้ายต้นขิงแดง (plantlets) ออกปลูกนอกสภาพปลอดเชื้อ โดยปลูกในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ พบว่าทรายผสมขี้เลื่อยอัตราส่วน 1:1 ทำให้ต้นขิงแดงมีเปอร์เซนต์รอดตายมากที่สุด

Abstract

Propagation of red ginger (*Alpinia purpurata*) through tissue culture was investigated by using apical buds cultured on Murashige and Skoog (MS) (1962) medium supplemented with 6-benzylamino purine (BA) (0,1,5,10 and 15 mg/l) for shoot regeneration and ∝-naphthaleneacetic acid (NAA) (0.5, 1.0 and 1.5 mg/l) for root induction. The results showed that shoot multiplication was obtained on medium with 5 mg/l BA and suitable medium for root formation was MS medium containing 1 mg/l BA and 1.5 mg/l NAA. The effect of medium on *ex vitro* growth of plantlets was also studied. The maximum of surviving plantlets and number of leaves were achieved from sand and sawdust (1:1) mixture.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ขิงแดง (*Alpinia purpurata*) เป็นไม้ตัดดอกเขตร้อนที่กำลังได้รับความนิยมกัน ทั้งในประเทศและต่างประเทศ พบว่าความต้องการของตลาดมีเพิ่มมากขึ้นทุกปี (กลุ่มไม้ดอกไม้ประดับ, 2534, สมเพียร, 2532) เนื่องจากขิงแดงมีช่อดอกที่สวยสะดุดตา ดอกบานทน เหมาะสมที่จะใช้เป็นไม้ตัดดอก การขยายพันธุ์ขิงแดงในปัจจุบันใช้วิธีแยกหน่อ ซึ่งการเพิ่มปริมาณโดยวิธีนี้ค่อนข้างช้า ดังนั้นถ้าใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มาทำการขยายพันธุ์เพิ่มปริมาณได้รวดเร็วในระยะเวลาอันสั้นจะแก้ปัญหาดังกล่าวได้

ปัจจุบันมีรายงานการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขิง (*Zingiber officinale* Rose.) Hosoki และ Sagawa (1977) รายงานว่าอาหารแข็งที่มีธาตุอาหารหลักของ MS(1962) และธาตุอาหารรองของ Ringe + Nitch(1968) ที่เติม BA 1 mg/l สามารถชักนำให้เกิดรากและยอดจำนวนมากของขิงได้ Gati *et al.* (1987) พบว่าการเลี้ยงตาขิงบนอาหาร MS ที่เติม BA 10 mg/l และ NAA 1 mg/l จะทำให้เกิดแคลลัส ฐิติภาส (2530) สามารถเพิ่มปริมาณต้นขิงได้ประมาณ 4 เท่า โดยการเลี้ยงตาบนอาหาร MS(1962) ที่เติม BA 10 mg/l จุดมุ่งหมายของงานวิจัยนี้ เพื่อศึกษาเทคนิคการขยายพันธุ์ต้นขิงแดง โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

ขิงแดง (*Alpinia purpurata*) (วิทย์,2530) เป็นไม้หัวจำพวกเดียวกับขิงข่า มีเหง้าหรือหัวอยู่ใต้ดินคล้ายกับหัวขิงหรือข่า ส่วนที่เห็นเป็นลำต้นอยู่เหนือดินความจริงเป็นกาบในที่ห่อกันสลับซับซ้อนกันและเจริญเติบโตขึ้นสูงประมาณ 1-1.5 เมตร ใบเจริญเติบโตเป็นสองแถวในแนวเดียวกัน ทรงใบเป็นรูปใบหอกยาวประมาณ 10-12 นิ้ว กว้างประมาณ 5-6 นิ้ว ลักษณะขอบใบบาง เส้นใบขนานเป็นแนวเช่นเดียวกับกล้วย ดอกจะออกตามยอดเป็น ช่อตั้ง ยาวประมาณ 8-12 นิ้ว สีแดง แต่ช่อดอกสีแดงที่เห็นนั้นเป็นเพียงใบประดับเท่านั้นดอกจริง ๆ แล้วยาวเพียง 1 นิ้ว เป็นรูปกรวยจะโผล่บานออกมาจากใบประดับ ดอกขิงจะผลัดกันบานครั้งละ1-2 ดอกและออกดอกเป็นระยะ ๆ ตลอดปี ขิงแดงเป็นพันธุ์ไม้ที่ปลูกง่ายและโตเร็ว ชอบดินร่วนซุยหรือดินปนทรายที่มีความชุ่มชื้น ปลูกได้ทั้งในที่กลางแจ้งและในที่ร่ม

การขยายพันธุ์ขิงโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Hosoki and Sagawa (1977) ทดลองฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของตาขิงโดยใช้ คลอรอกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้งเลี้ยงบนอาหารแข็งที่ประกอบด้วยธาตุอาหารหลัก ตามสูตรMurashige และ Skoog(1962) ธาตุอาหารรองและวิตามินสูตรของ Ringe และ Nitch (1968) ซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ ว น 0.8 เปอร์เซ็นต์ pH 6.0 โดยเติม BA 1 mg/l สามารถเพิ่มจำนวนต้นและรากได้ 5.6 ต้นและ 3 ราก จากต้น 1 ต้นที่ยังไม่มีรากเกิดขึ้น

Pillai and Kumar (1982)ใช้ตาจากแง่งขิงที่มีอายุแตกต่างกันฆ่าเชื้อโดยใช้เมอร์คิวคลอไรด์ 0.1 เปอร์เซ็นต์ และเอธานอล 90 เปอร์เซ็นต์ ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Schenk และ Hildebrandt (1972) โดยไม่มีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าสามารถ ทำลายการพักตัวของตาขิงได้ และเมื่อย้ายลงในอาหารใหม่สูตรเดิมสามารถเพิ่มจำนวนได้ภายใน 3 เดือน

Gati *et al.* (1987) นำส่วนตาของขิงแดงมาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ตามด้วยเมอร์ควริกคลอไรด์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 50 เปอร์เซ็นต์ ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Murashige และ Skoog (1962) น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์วุ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ pH 5.6 ± 0.1 และเติม BA mg/lและ NAA 1 mg/l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส

Ikeda and Michael (1989) ศึกษาการเพิ่มปริมาณของต้นขิงในสภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้สูตรอาหาร Murashige และ Skoog (1962) เติม BA 11 μM ในอาหารเหลวจะสามารถเพิ่มปริมาตรต้นได้ถึง 10 ต้น ภายใน 49 วัน

สำหรับในประเทศไทย อรดี (2524) ได้ทดลองนำหน่ายจากแง่งขิงหยวกมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยนำมาล้างน้ำฟอกสบู่ ใช้ผ้าชุบเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ เช็ดแง่งขิงให้สะอาด แล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัดเฉพาะปลายแง่งขิงซึ่งมีอยู่ด้วยยาวประมาณ 1 เซนติเมตร แช่ในน้ำยาคลอรอกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ แล้วลอกเนื้อเยื่อที่หุ้มตายอดออกอีก ใช้มีดตัดเอาปลายยอดขนาด 2.3 มิลลิเมตร เลี้ยงในอาหารแข็งสูตร Murashige และ Skoog (1962) ที่เติม NAA และ BA อย่างละ 1 mg/l เลี้ยงที่อุณหภูมิ 26-28 องศาเซลเซียส ได้รับแสงประมาณ 2,000 ลักซ์ เป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวัน สามารถชักนำให้เกิด ต้นเล็ก ๆ ได้ภายใน 40 วัน แต่ยังไม่มีรากและจะรากในอาหารสูตรเดียวกัน เมื่อเลี้ยงต่อไปอีก 2 เดือน นอกจากการใช้วิธีตัดแบ่งและเปลี่ยนอาหารบ่อยแล้ว ยังอาจใช้วิธีเลี้ยงในอาหารเหลวและใช้เครื่องเขย่าแบบเดียวกับกรณีที่ใช้ในกล้วยไม้

ฐิติภาส (2530) ได้ศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว การใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในเนื้อเยื่อขิง และสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้นปลอดโรค โดยการใช้คลอรอกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับออโธไซด์ 50 2 เปอร์เซ็นต์ และเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ในการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว ปรากฏว่าไม่สามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ภายในเนื้อเยื่อขิงได้ และมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนสูงถึง 98.96-100 เปอร์เซ็นต์ แต่ก็สามารถรักษาตาขิงให้หายจากโรคที่เกิดจากาแบคทีเรียได้ โดยเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร Murashige และ Skoog (1962) ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และ Streptomycin 500 mg/l เป็นเวลา 10 วัน นำต้นปลอดโรคที่ได้ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige และ Skoog (1962) ที่เติมสารในกลุ่ม Cytokinin คือ BA. kinetin, 2-iP แต่ละสารใช้ความเข้มข้นเหมือนกัน คือ ความเข้มข้นที่ระดับ 0, 2, 4, 6, 8, และ 10 mg/l เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ต้นที่เลี้ยงบนอาหารแข็งที่เติม BA 10 mg/l สามารถเพิ่มจำนวนต้นเฉลี่ยสูงสุด 3.6 ต้น จากต้นเดิม 1 ต้น

สิรินทร์ (2532) ศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณขิงในหลอดทดลอง โดยศึกษาเปรียบเทียบระหว่างสูตรอาหารแข็งและอาหารเหลว พบว่า ขิงที่เลี้ยงในอาหารเหลวจะให้จำนวนหน่อมากกว่าขิงที่เลี้ยงในอาหารแข็ง โดยสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุด คือ Murashige และ Skoog(1962) เมื่อมีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตประเภท Cytokinin ร่วมด้วย พบว่า อาหารเหลวสูตร Murashige และ Skoog (1962) ที่เติม BA 5 mg/l สามารถเพิ่มปริมาณหน่อได้มาก ซึ่งอัตราการเพิ่มปริมาณเช่นนี้สามารถจะทำการผลิตขิงได้พอกับความต้องการให้ต้นทุนที่ต่ำได้

อังศนา (2533) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขิง พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้ตาขิงเจริญไปเป็นต้น ได้แก่ สูตรอาหาร Murashige และ Skoog (1962) ที่เติม ซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ NAA 0.5 mg/l และ BA 15 mg/l ภายใน 45 วัน และการชักนำให้เกิด callus ได้โดยการใช้เนื้อเยื่อส่วนใต้ตาและปลายราก เลี้ยงบนอาหารสูตร Schenk และ Hilderbrandt (1972) ที่เติม 2,4,-D.0.5 mg/l, kinetin 0.1 mg/l และ NAA 2.0 mg/l สามารถชักนำให้เกิด callus ได้ภายใน 1 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

แบ่งการทดลอง ออกเป็น 3 การทดลอง ดังนี้ :-

การทดลองที่ 1 การศึกษาการเพิ่มปริมาณต้นขิงแดงในสภาพปลอดเชื้อ

นำตาของขิงแดงมาฟอกฆ่าเชื้อ โดยแช่ในเอทริลแอลกอฮอร์ 70% นาน 1 นาที แล้วเขย่าด้วยคลอรอกซ์เข้มข้น 10% นาน 3 นาที ตามด้วย คลอรอกซ์เข้มข้น 5% นาน 20 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง หลังจากนั้นตัดตาให้มีขนาด 0.8-1.2 เซนติเมตร แล้วนาไปเลี้ยงบนอาหาร MS (1962) ที่เติม BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0,1,5,10 และ 15 mg/l วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design โดยให้ความเข้มข้นของ BA เป็น Treatment มี 10,17,13,13 และ 11 ซ้ำตามลำดับ ทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2°C แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน วัดผลการทดลอง โดยนับจำนวนยอด ความยาวยอด ที่เกิดขึ้นหลังจากเพาะเลี้ยงแล้วเป็นเวลา 4 เดือน

การทดลองที่ 2 การศึกษาการชักนำให้ยอดออกราก

คัดเลือกต้นขิงแดงที่มีความสูงประมาณ 2 ซม. จากการทดลองที่ 1 นำมาเลี้ยงบนอาหารสูตรพื้นฐานคือ อาหาร MS(1962) ที่เติม BA 1 mg/l และเติม NAA ที่ระดับความ เข้มข้นต่าง ๆ คือ 0.5, 1.0 และ 1.5 mg/l ตามลำดับ ทำการทดลองแบบ completely randomized design โดยให้ความเข้มข้นของ NAA เป็น Treatment มี 10 ซ้ำ วัดผลการทดลองโดยการบันทึกจำนวนราก ความยาวราก

การทดลองที่ 3 การศึกษาวัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการย้ายต้น (Plantlet) ออกปลูกนอกสภาพปลอดเชื้อ

นำต้นขิงแดงที่มีความสูงประมาณ 3-5 ซม. มีใบ 4-5 ใบ และมีรากสมบูรณ์ ออกปลูกในวัสดุปลูกผสมชนิดต่าง ๆ คือ

1.	ขี้เลื่อย	ผสม ดินร่วน	อัตราส่วน 2:1
2.	ขี้เลื่อย	ผสม ทราย	อัตราส่วน 1:1
3.	ขี้เลื่อย	ผสม ขุยมะพร้าว	อัตราส่วน 1:1
4.	ขี้เลื่อย	ผสม ขี้เถ้าแกลบ	อัตราส่วน 1:1
5.	ขี้เถ้าแกลบ	ผสม ขุยมะพร้าว	อัตราส่วน 1:1

ทำการทดลองแบบ Randomized Completed Block โดยให้วัสดุปลูกผสมแต่ละชนิดเป็น Treatment ทำ 5 ซ้ำ ๆ ละ 25 ต้น แล้วนำต้นไปไว้ในโรงเรือนพลาสติก เป็นเวลา 7 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดลองที่ 1

การศึกษาผลของ BA ต่อการเจริญเติบโตของตาขิงแดง พบว่าเมื่อชิ้นส่วนอายุ 1-2 เดือน อาหาร MS ที่ไม่มี BA ทำให้ชิ้นส่วนมีการเจริญเติบโตมากกว่าอาหารที่มี BA โดยชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่ไม่มี BA ตาขยายใหญ่ขึ้นและใบเริ่มคลี่ออก มีการแตกยอดเพิ่มขึ้น 1-2 ยอด ส่วนชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA ทุกความเข้มข้นมีการเจริญเติบโตช้า มีการแตกตาเล็ก ๆ เกิดขึ้น อาหารที่มี BA 15 mg/l ชิ้นส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล อาหารทุกชนิดไม่ทำให้เกิดแคลลัส เมื่อชิ้นส่วนมีอายุ 3-4 เดือน ตาเริ่มมีการพัฒนามากขึ้น เกิดการแตกยอดมากขึ้น จากตารางที่ 13 พบว่าตาที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม BA 5 mg/l มีจำนวนยอดเกิดมากกว่าอาหารชนิดอื่น ๆ โดยมียอดเกิดขึ้น 1.84 ยอด เมื่อเลี้ยงได้ 3 เดือน และ 2.36 ยอด เมื่อเลี้ยงได้ 4 เดือน (ภาพที่ 4) นอกจากนี้ ยอดที่เกิดขึ้นยังมีความยาวมากกว่ายอดที่เลี้ยงบนอาหารชนิดอื่นอีกด้วย ซึ่งจากการทดลองนี้ คล้ายคลึงกับการเพาะเลี้ยงขิงที่ สิรินทร์ (2532) พบว่า อาหาร MS ร่วมกับ BA 5 mg/l ทำให้ตาขิงเกิดยอดจำนวนมาก และเมื่อความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้นจะทำให้การเกิดตาลดลงซึ่งสอดคล้องกับการทดลองผลของ BA ต่อการเกิดหน่อกล้วย โดยที่ Jarret *et al.* (1985) พบว่า ถ้าเลี้ยงยอดของกล้วยพันธุ์ Pelipita และ Saba บนอาหาร MS ที่เติม BA เข้มข้น 10 และ 15 mg/l จะทำให้เกิดหน่อลดลง แต่อาหาร MS ที่เติม BA 5 mg/l สามารถเพิ่มปริมาณยอดได้จำนวนมาก

ตารางที่13 ผลของ BA ต่อการเกิดยอด

BA (mg/l)	จำนวนยอด*		ความยาวยอด*(ซม)	
	3 เดือน	4 เดือน	3 เดือน	4 เดือน
0	1.33 ± 0.12 **b**	1.70 ± 0.15 **b**	1.47 ± 0.18 **a**	1.52 ± 0.47 **b**
1	1.58 ± 0.11 **ab**	2.02 ± 0.22 **a**	1.45 ± 0.08 **a**	1.42 ± 0.24 **a**
5	1.84 ± 0.18 **a**	2.36 ± 0.25 **a**	1.60 ± 0.32 **a**	1.14 ± 0.12 **a**
10	1.14 ± 0.18 **b**	1.45 ± 0.23 **bc**	1.14 ± 0.24 **b**	1.15 ± 0.07 **b**
15	1.00 ± 0.00 **b**	1.00 ± 0.00 **c**	1.00 ± 0.00 **b**	1.00 ± 0.00 **b**

* ค่าเฉลี่ย±SE ที่มีอักษรกำกับต่างกันตามแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<=0.05$) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

การทดลองที่ 2

การศึกษาผลของ NAA ต่อการออกรากของต้นขิงแดง (plantlets) เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า NAA เข้มข้น 1.5 mg/l ทำให้ยอดเกิดรากมากที่สุด และรากมีความยาวมากที่สุด (ตารางที่ 14) (ภาพที่ 5) รองลงไปคือ NAA เข้มข้น 0.5 mg/l และ NAA เข้มข้น 1.0 mg/l ซึ่งแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของNAAที่ทำให้ต้นออกรากนั้นเป็นความเข้มข้นจำเพาะเช่นเดียวกับรายงาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของ Messerchmidt (1974) พบว่าสามารถชักนำให้แคลลัสของต้น Japanese Morning Glory เจริญเติบโตและเกิดรากได้ดีเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม NAA 1.5 mg/l และ BA 0.5 mg/l นอกจากนี้ยังมีรายงาน ของ Cronauer and Krilorian (1984) ที่สนับสนุนว่า NAA สามารถช่วยให้ยอดเกิดรากได้ดีในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอดกล้วยบนอาหาร MS

ตารางที่14 ผลของ NAA ต่อการเกิดราก

NAA	จำนวนราก*		ความยาวราก*(ซม)	
mg/l	1 เดือน	2 เดือน	1 เดือน	2 เดือน
0.5	1.89 ± 0.16 a	24.8 ± 1.72 b	1.22 ± 0.04a	0.74 ± 0.05 a
1.0	1.52 ± 0.21 b	19.3 ± 1.19 c	0.93 ± 0.13a	0.51 ± 0.02 b
1.5	1.43 ± 0.29 a	28.7 ± 2.49 a	1.26 ± 0.40a	0.83 ± 0.04 a

* ค่าเฉลี่ย±SE ที่มีอักษรกำกับต่างกันตามแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<=0.05$) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

จากสัปดาห์แรกต้นขิงมีการเจริญเติบโตดีไม่มีต้นตายเกิดขึ้น ยกเว้นในวัสดุที่มีขี้เลื่อย : ดิน 2:1 แต่หลังจากสัปดาห์ที่ 3 ต้นขิงแคงเริ่มตายมากขึ้นจนสัปดาห์ที่ 7 ยกเว้นวัสดุปลูกที่มีขี้เลื่อย : ทราย 1:1 ไม่มีต้นตายเกิดขึ้นเลย และยังมีการเจริญเติบโตของต้นดีที่สุดอีกด้วย (ตารางที่ 15) โดยมีความสูงของต้นสูงที่สุดคือ 4.94 ซม. ส่วนวัสดุปลูกที่มี ขุยมะพร้าว : ขี้เถ้าแกลบ มีเปอร์เซนต์ต้นตายมากที่สุด และยังมีการเจริญเติบโตของต้นน้อยที่สุดอีกด้วย โดยที่ต้นกล้ามีความสูงเฉลี่ยเพียง 2.54 ซม. (ตารางที่16)ดังนั้นการที่วัสดุปลูกขี้เลื่อยผสมทรายเป็นวัสดุที่เหมาะสมต่อการย้ายต้นขิงแดง เนื่องจากขี้เลื่อยเป็นวัสดุที่เก็บความชื้นได้ดี ย่อยสลายช้า นอกจากนี้ขี้เลื่อยยังมีอัตราส่วนของ C:N กว้างถึง 1000:1 ส่วนทรายเป็นวัสดุที่มีลักษณะหยาบ ทำให้มีการระบายน้ำและอากาศได้ดีและไปเพิ่มความแน่น ทำให้วัสดุปลูกหนักและแน่นขึ้น (วิทยา, 2534) ส่วนวัสดุอื่นคือขุยมะพร้าวและขี้เถ้าแกลบ แม้ผสมกับขี้เลื่อยก็ไม่ทำให้ต้นเจริญเติบโตดี เนื่องจากวัสดุเหล่านี้อาจมีน้ำหนักเบาเกินไป รากพืชที่เจริญในเครื่องปลูกเหล่านี้ค้ำจุนพืชได้ไม่ดีเท่าที่ควร ความสามารถ ในการอุ้มน้ำสูงทำให้เครื่องปลูก มีน้ำเก็บอยู่มากเกินความจำเป็นการระบายอากาศ ในเครื่องปลูกจึงไม่ดีพอ (วิทยา,2534)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 15 ผลของวัสดุปลูกต่อ % การตายของต้นย้ายปลูก

วิธีการ	สัปดาห์ที่*						
	1	2	3	4	5	6	7
sawdust : soil 2:1	0	4	8	8b	12b	12a	12b
sawdust : sand 1:1	0	0	0	0b	0b	0a	0b
sawdust : coconut fibre 1:1	0	0	0	0b	0b	0a	4b
sawdust : rice hull 1:1	0	0	0	0b	0b	8a	16b
rice hull : coconut fibre 1:1	0	0	0	36a	72a	72b	76a

* ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันตามแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<=0.05$) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

ตารางที่ 16 ผลของวัสดุปลูกต่อความสูงของต้น

วิธีการ	สัปดาห์ที่						
	1	2	3	4	5	6	7
sawdust : soil 2:1	3.50bc	3.80bc	3.57	3.60b	4.02ab	4.12bc	4.36ab
sawdust : sand 1:1	4.12a	4.41a	4.51	4.42a	4.64a	4.77ab	5.20a
sawdust : coconut fiber 1:1	3.99ab	4.11ab	4.08	4.22a	4.73a	4.94a	4.98a
sawdust : rice hull 1:1	3.26c	3.41c	4.25	3.34bc	3.82b	3.57c	3.49bc
rice hull : coconut fiber 1:1	3.67abc	3.62bc	3.47	2.74c	1.34c	1.72d	2.54c

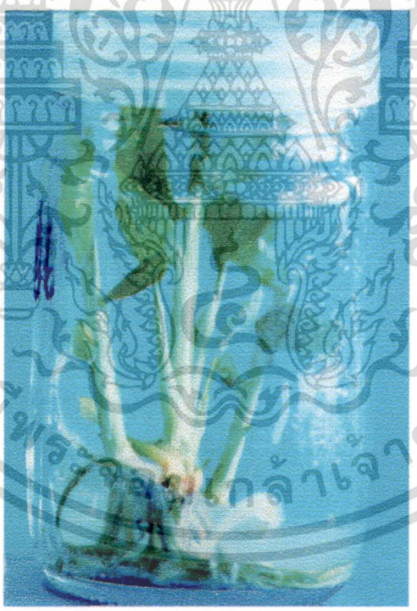
* ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันตามแนวตั้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<=0.05$) เมื่อทดสอบโดยวิธี Duncan's new multiple range test

สรุปผลการทดลอง

การเพิ่มปริมาณขิงแดง โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทำได้โดยการเลี้ยงตายอดที่เกิดจากหน่อหรือเหง้าที่แตกใหม่บนอาหาร MS(1962) ที่เติม BA เข้มข้น 5 mg/l และชักนำยอดให้เกิดรากโดยนำยอดไปเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มี BA เข้มข้น 1 mg/l และ NAA 1.5 mg/l และวัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อการย้ายต้นออกปลูกนอกสภาพปลอดเชื้อได้แก่ ทราย:ขี้เลื่อย อัตราส่วน 1:1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4 ตายอดเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มี BA 5 mg/l เกิดยอดมาก



ภาพที่ 5 ยอดเกิดรากมากเมื่อเลี้ยงบนอาหาร MSที่มีBA 1mg/l และNAA 1.5 mg/l

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มไม้ดอกไม้ประดับ. 2534. ทะเบียนผู้ประกอบการไม้ดอกไม้ประดับ. กองส่งเสริมพืชสวน. กรมส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพฯ.

ฐิติภาส ชิตโชติ. 2530. การผลิตพันธุ์ขิงปลอดโรคโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. 2530. พจนานุกรมไม้ดอกไม้ประดับในเมืองไทยเล่ม 1. โอ เอส พรินตริ้ง เฮาส์. กรุงเทพฯ. 405 น.

วิทยา สริยาภณานนท์. 2534. วัสดุปลูกพืชในภาชนะ น.29-74. ใน วันต้นไม้ประจำปีแห่งชาติ กองสวนสาธารณะ สำนักสวัสดิการสังคม ห้างหุ้นส่วนจำกัด ป.สัมพันธ์พาณิชย์. กรุงเทพฯ

สมเพียร เกษมทรัพย์. 2532. เทคโนโลยีการผลิตธุรกิจไม้ตัดดอก. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สิรินทร์ ไทยธวัช. 2532.ปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณขิงในหลอดทดลอง.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

อรดี สหวัชรินทร์. 2524. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช 2 การเพาะเลี้ยงปลายยอด. วารสารพืชสวน. 3(5): 61-66.

อังศนา อัครพิศาล. 2533. การเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสและเซลสำหรับศึกษาปฏิกิริยาตอบสนองเฉียบพลันของสายพันธุ์ขิงต่อเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

Cronauer, S.S. and A.D.Krikorian. 1984. Rapid multiplication of banana and plantains by *in vitro* shoot tip culture. HortScience 19(2):234-235

Gati,E.I. Mariska and F.Muhadjir. 1987. Rapid propagation of ginger (*Zingiber officinale* Rose.) through tissue culture technique. Proceeding of the second annual conference of the international plant biotechnology network (IPBNet), Bangkok, Thailand.

Hosaki, T. and Y.Sagawa. 1977. Clonal propagation of ginger (*Zingiber officinale* Rose.) through tissue culture. HortScience. 12(5):451-452.

Ikeda. R. L. and J.T. Michael. 1989. *In vitro* subculture application for ginger. HortScience. 24(1): 142-143.

Jerret, R.L., W. Rodriguez and R. Fernandez. 1985. Evaluation tissue culture propagation and dissemination of "Saba" and "Pelipita" plantains in Costa Rica. Sci. Hort. 25:137-147.

Messerchimidt, M. 1974 Kallusbildung and differenzierung aus isolierten Protoplast von Pharbitis nil Z.Pflanzenphusiol. 74:175-178 อ้างโดย Yomeda, Y. 1990. Japanese Morning

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Glory. pp. 509-533. In P.V. Ammirato, D.R. Evans, W.R.Sharp and P.S. Bajaj (eds.) HandBook of Plant Cell Culture. McGraw-Hill Publishing Company. USA.

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

Pillai, S.K. and K.B. Kumar. 1982. Note on the clonal multiplication of ginger *in vitro*. Indian J. Agri.Sci. 52:397-399.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำขอบคุณ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้