การชักนำให้เกิดรากของลาเวนเดอร์ในหลอดทดลอง

IN VITRO ROOT INDUCTION OF *Lavandula dentata*

จุฑามณี วงแก้วเจริญ
ปราการ ชมบูรณ์
ปัทมาลัย บุญเสริม

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

IN VITRO ROOT INDUCTION OF *Lavandula dentata*

JUTAMANEE WONGKRAWJAROEN
PRAKARN CHOMBOON
PATMALAI BOONSERM

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2016

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การชักนำให้เกิดรากของลาเวนเดอร์ในหลอดทดลอง *In Vitro* Root Induction of *Lavandula dentata*
ชื่อนักศึกษา	นางสาว จุฑามณี วงแก้วเจริญ รหัสนักศึกษา 56050815 นาย ปราการ ชมบูรณ์ รหัสนักศึกษา 56050860 นางสาว ปัทมาลัย บุญเสริม รหัสนักศึกษา 56050862
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2559

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร. สรัญญา พันธุ์พฤกษ์ ประธานกรรมการ	
ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์ กรรมการ	
ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การชักนำให้เกิดรากของลาเวนเดอร์ในหลอดทดลอง			
ชื่อนักศึกษา	นางสาว	จุฑามณี	วงแก้วเจริญ	รหัสนักศึกษา 56050815
	นาย	ปราการ	ชมบูรณ์	รหัสนักศึกษา 56050860
	นางสาว	ปัทมาลัย	บุญเสริม	รหัสนักศึกษา 56050862

ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี

บทคัดย่อ

การนำชิ้นส่วนข้อของต้นลาเวนเดอร์ที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองถูกนำมาศึกษาถึงอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต ความเข้มข้นของสูตรอาหาร MS ความเข้มข้นของวุ้นและวิธีการวางชิ้นส่วนพืชต่อการเกิดรากของต้น *Lavandula dentata* พบว่าอาหารทุกสูตรสามารถชักนำให้เกิดรากได้ อย่างไรก็ตามการชักนำให้เกิดรากและการเจริญเติบโตของรากจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของอาหารสูตร MS ลดลงและสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA มีประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดรากดีกว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้นของวุ้นที่ลดลงมีผลทำให้การแพร่ของอาหารดีขึ้นเป็นผลให้เกิดรากได้ดีขึ้น การวางชิ้นส่วนพืชแบบหัวกลับชักนำให้เกิดรากดีกว่าการวางชิ้นส่วนพืชแนวหัวตั้ง

คำสำคัญ : ชิ้นส่วนข้อ, สารควบคุมการเจริญเติบโต, ลาเวนเดอร์, การชักนำให้เกิดราก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	*In Vitro* Root Induction of *Lavandula dentata*			
Students	Miss	Jutamanee	Wongkrawjaroen	Student ID 56050815
	Mr.	Prakarn	Chomboon	Student ID 56050860
	Miss	Patmalai	Boonserm	Student ID 56050862

Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2016
Advisor	Asst. Prof. Dr. Pana Lohasupthawee

Abstract

Nodal segments from micropropagated plants were used to evaluate the effect of growth regulators, MS medium concentration, agar concentration and method of inoculation of the explants on the *in vitro* rooting of *Lavandula dentata*. Rooting of the plantlets was obtained in all the media evaluated. However, root induction and root growth increased with the reduction of the salt strength of the media and NAA was more effective in promoting root development than IBA. Low concentration of agar provided a better diffusion of medium constituents, resulted in better rooting. Upside down inoculation of the explants resulted in better root induction than with straight up inoculation.

Keywords: Nodal Segments, Hormone, Growth Regulators, Root Induction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความอนุเคราะห์จากบุคคลหลายท่าน ซึ่งผู้มีพระคุณท่านแรกที่ใคร่ขอกราบขอบพระคุณ คือ ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษที่ได้ให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการทดลอง รวมทั้งเป็นผู้ตรวจสอบความถูกต้องของโครงงานพิเศษเล่มนี้ด้วยความเอาใจใส่ในทุกขั้นตอน จึงทำให้โครงงานพิเศษออกมาเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. สรัญญา พันธุ์พฤกษ์ ประธานกรรมการในการสอบโครงงานพิเศษ ผศ.ดร. สมชาย ไกรรักษ์ และ ผศ.ดร. พนา โลหะทรัพย์ทวี กรรมการในการสอบโครงงานพิเศษที่กรุณาสละเวลาอันมีค่าเพื่อมาเป็นคณะกรรมการในการสอบโครงงานพิเศษ รวมทั้งชี้แนะแนวทางในการทำโครงงานพิเศษฉบับนี้

ขอขอบพระคุณคณะอาจารย์ ณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกสาขาวิชาที่ได้ให้ความรู้และคำแนะนำในการจัดทำโครงงานพิเศษเล่มนี้ขึ้น

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยา ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกเครื่องมืออุปกรณ์ และสารเคมี ในการทดลองทำให้โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ธุรการ เจ้าหน้าที่อาคารและสถานที่คณะวิทยาศาสตร์ และท่านที่มิได้กล่าวนาม ณ ที่นี้ ที่ให้ความอนุเคราะห์และอำนวยความสะดวก

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ครอบครัว และญาติมิตร ด้วยความเคารพรักอย่างยิ่งสำหรับคำปรึกษาและเป็นกำลังใจที่ดีมาโดยตลอด

ขอขอบคุณเพื่อนๆ และพี่ๆ ทุกคนที่ให้คำปรึกษาและความช่วยเหลือตลอดการทดลอง

โครงงานพิเศษฉบับนี้คงจะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจในงานวิจัยที่เกี่ยวข้องทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะผู้จัดทำขออุทิศโครงงานพิเศษนี้ไว้เป็นแหล่งค้นคว้า ให้กับผู้ที่สนใจในอนาคตต่อไป หากมีข้อผิดพลาดประการใดทางคณะผู้จัดทำ ขออภัยมา ณ ที่นี้

จุฑามณี วงแก้วเจริญ
ปราการ ชมบูรณ์
ปัทมาลัย บุญเสริม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
คำย่อ/สัญลักษณ์	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย/ปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	1
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	1
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ลาเวนเดอร์	3
2.1.1 ประวัติและความเป็นมา	3
2.1.2 ความสำคัญและการใช้ประโยชน์	3
2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	4
2.2.1 ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	5
2.2.2 เครื่องมือ อุปกรณ์ ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	7
2.2.3 หลักการและวิธีการ	10
2.3 อาหารสังเคราะห์สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	13
2.3.1 ประเภทของอาหาร	14
2.3.2 ส่วนประกอบของอาหาร	14
2.3.3 ฮอร์โมนพืชและสารควบคุมการเจริญเติบโต	17
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	19
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	21
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี	21
3.1.1 ตัวอย่างที่นำมาใช้ในการศึกษา	21
3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร	21
3.1.2.1 องค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยง	21
3.1.2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโต	21
3.1.3 อุปกรณ์	21
3.1.3.1 อุปกรณ์และวัสดุที่ใช้ในการเตรียมอาหาร	21
3.1.3.2 อุปกรณ์และวัสดุสำหรับการตัดถ่ายเนื้อเยื่อในตู้ย้ายเนื้อเยื่อ	21
3.2 วิธีการทดลอง	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.1 การเตรียมอาหารแข็ง MS (Murashige และ Skoog, 1962)	22
3.2.2 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดราก	22
3.2.2.1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดราก โดยลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชแนวตั้ง	22
3.2.2.2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดราก โดยลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชแนวนอน	23
3.2.2.2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดราก โดยลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชแนวหัวกลับ	23
3.2.2.4 การศึกษาความเข้มข้นของวุ้นที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดราก	23
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	25
4.1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากโดยลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชแนวตั้ง	25
4.2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากโดยลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชแนวนอน	30
4.3 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากโดยลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชแนวหัวกลับ	35
4.4 การศึกษาความเข้มข้นของวุ้นที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดราก	40
4.5 อภิปรายผลการทดลอง	44
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	46
5.1 สรุปผลการวิจัย	46
5.1.1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดราก	46
5.1.2 การศึกษาลักษณะการวางชิ้นส่วนพืช	46
5.1.3 การศึกษาความเข้มข้นของวุ้น	46
5.2 ข้อเสนอแนะ	47
เอกสารอ้างอิง	48
ภาคผนวก	50
ภาคผนวก ก	51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1 **ตาราง 3.1**	สูตรอาหาร MS ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันซึ่งประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตระหว่าง NAA และ IBA ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน	24
1.2 **ตาราง 4.1**	เปอร์เซ็นต์การเกิดรากและลักษณะของรากในสูตรอาหาร MS ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันและสารควบคุมการเจริญเติบโตระหว่าง NAA และ IBA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลานาน 30 วัน	25
1.3 **ตาราง 4.2**	เปอร์เซ็นต์การเกิดรากและลักษณะของรากในสูตรอาหาร MS ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันและสารควบคุมการเจริญเติบโตระหว่าง NAA และ IBA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลานาน 30 วัน	30
1.4 **ตาราง 4.3**	เปอร์เซ็นต์การเกิดรากและลักษณะของรากในสูตรอาหาร MS ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันและสารควบคุมการเจริญเติบโตระหว่าง NAA และ IBA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลานาน 14 วัน	35
1.5 **ตาราง 4.4**	เปอร์เซ็นต์การเกิดรากในสูตรอาหาร 1/4 MS ที่มีความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร และเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของวุ้นที่แตกต่างกัน เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 7 วัน	43
1.6 **ตาราง ก.1**	Murashige and Skoog Basal medium (MS)	51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
4.1	ลักษณะของรากและต้นลาเวนเดอร์ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน ลักษณะการวางชิ้นส่วนแนวตั้ง เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน	26
4.2	ลักษณะของรากและต้นลาเวนเดอร์ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 1/2 MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน ลักษณะการวางชิ้นส่วนแนวตั้ง เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน	27
4.3	ลักษณะของรากและต้นลาเวนเดอร์ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 1/4 MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน ลักษณะการวางชิ้นส่วนแนวตั้ง เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน	28
4.4	ลักษณะของรากและต้นลาเวนเดอร์ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่มีการเสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ลักษณะการวางแบบแนวนอน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน	31
4.5	ลักษณะของรากและต้นลาเวนเดอร์ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 1/2 MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน ลักษณะการวางชิ้นส่วนแนวนอน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน	32
4.6	ลักษณะของรากและต้นลาเวนเดอร์ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 1/4 MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน ลักษณะการวางชิ้นส่วนแนวนอน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน	34
4.7	ต้นลาเวนเดอร์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่มีการเสริมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ลักษณะการวางแนวหัวกลับ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน	36
4.8	ลักษณะของรากและต้นลาเวนเดอร์ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 1/2 MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน ลักษณะการวางชิ้นส่วนแนวหัวกลับ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน	37
4.9	ลักษณะของรากและต้นลาเวนเดอร์ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 1/4 MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน ลักษณะการวางชิ้นส่วนแนวหัวกลับ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 14 วัน	38
4.10	ลักษณะรากและลำต้นของต้นลาเวนเดอร์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 1/4 MS โดยมีลักษณะการวางแบบหัวกลับ ที่มีความเข้มข้นของวุ้นเท่ากับ 0 เปอร์เซ็นต์ ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน	40
4.11	ลักษณะรากและลำต้นของต้นลาเวนเดอร์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 1/4 MS โดยมีลักษณะการวางแบบหัวกลับ ที่มีความเข้มข้นของวุ้นเท่ากับ 0.4 เปอร์เซ็นต์ ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน	41
4.12	ลักษณะรากและลำต้นของต้นลาเวนเดอร์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 1/4 MS โดยมีลักษณะการวางแบบหัวกลับ ที่มีความเข้มข้นของวุ้นเท่ากับ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

IBA	4-Indole-3-yl butyric acid
NAA	1-Naphthaleneacetic acid
MS	Murashige and Skoog Nutients
pH	Potential of Hydrogen ion
°C	องศาเซลเซียส
mg/L	มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา (Sandra และAnabela, 2012)

ลาเวนเดอร์คือพืชมีดอกอยู่ในวงศ์มินท์ (Lamiaceae) ซึ่งเป็นพืชประจำท้องถิ่นแถบเมดิเตอร์เรเนียน คาบสมุทรอาหรับ หมู่เกาะคะแนรี ประเทศอินเดีย มีถึง 39 สปีชีส์ ซึ่งมีความหลากหลายทางสายพันธุ์ และขึ้นทะเบียนสายพันธุ์ใหม่กว่า 400 สายพันธุ์ ลาเวนเดอร์เป็นพืชที่มีกลิ่นหอม และมีคุณสมบัติทางยาเป็นเครื่องหอมที่มีมูลค่าสูง รวมทั้งด้านเภสัชกรรม อาหาร และ อุตสาหกรรมเกี่ยวกับกลิ่น ลาเวนเดอร์เป็นไม้ประดับที่เป็นที่นิยม จุดประสงค์ของการหาวิธีขยายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพของ *Lavandula* spp. คือ ต้องการผลิตพืชที่มีคุณภาพเพื่อยกระดับตลาดของไม้ประดับหรือการผลิตสารสกัดของเมตาบอไลท์ ลาเวนเดอร์สามารถขยายพันธุ์ได้ทั้งอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ รวมถึงการแพร่พันธุ์โดยใช้เมล็ด ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตช้าอย่างเห็นได้ชัด ลาเวนเดอร์ยังเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของน้ำมันหอมระเหย การขยายพันธุ์พืช โดยการเพิ่มจำนวนด้วยวิธีการตัดชำ ค่อนข้างใช้เวลานานและใช้แรงงานคนค่อนข้างเยอะ และการชักนำรากค่อนข้างไม่มีประสิทธิภาพ ปัจจัยเพิ่มเติมที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ภูมิอากาศ ปริมาณน้ำ และความต้านทานโรค ซึ่งมีผลต่อปริมาณสารและองค์ประกอบที่จำเป็นของน้ำมันหอมระเหย ข้อจำกัดข้างต้น สามารถแก้ปัญหาได้โดยวิธีการขยายพันธุ์ในหลอดทดลอง ใต้สภาวะการควบคุมสิ่งแวดล้อม ทำให้สะดวกต่อการเพิ่มจำนวนของพืชและการผลิตสารสกัดของเมตาบอไลท์ ซึ่งคุณภาพในการผลิตลาเวนเดอร์และน้ำมันเพิ่มขึ้น รวมถึงศักยภาพทางเศรษฐกิจของ *Lavandula* spp. การขยายพันธุ์ของลาเวนเดอร์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อถูกตีพิมพ์กว่า 20 ปี ได้มีการพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองที่มีมาก่อนหน้านี้ โดยเน้นการขยายพันธุ์พืชโดยใช้เทคนิคของการเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อคัดเลือกความเข้มข้นของอาหาร MS ที่เหมาะสมต่อการเจริญของราก
1.2.2 เพื่อคัดเลือกประเภทและความเข้มข้นของฮอร์โมนที่เหมาะสมต่อต่อการเจริญของราก
1.2.3 เพื่อคัดเลือกลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดราก
1.2.4 เพื่อคัดเลือกความเข้มข้นของวุ้นที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดราก
1.2.5 เพื่อขยายพันธุ์ลาเวนเดอร์ให้มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นด้วยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาอาหารสูตรที่เหมาะสมต่อการเจริญของรากต้นลาเวนเดอร์ (*Lavandula dentata.*) จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดและชิ้นส่วนข้อในอาหาร MS ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน โดยมีการการใส่สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ช่วยชักนำให้เกิดราก NAA และ IBA ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันเพื่อหาอาหารสูตรที่เหมาะสมต่อการเจริญของรากที่ดีที่สุดโดยศึกษาควบคู่ไปกับการศึกษาการปักวางชิ้นส่วนพืชในแนวตั้ง วางแนวนอน และแนวหัวกลับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถหาความเข้มข้นของอาหารสูตร MS ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากและการเจริญของราก

1.4.2 สามารถหาประเภทและความเข้มข้นของฮอร์โมนที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากและการเจริญของราก

1.4.3 สามารถเพิ่มปริมาณของต้นลาเวนเดอร์ด้วยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้ในเวลาอันรวดเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ลาเวนเดอร์ (*Lavandula*) เป็นสกุลของพืชดอก ประกอบไปด้วยพืช 39 ชนิด ในวงศ์มินต์ (*Lamiaceae*) เป็นพืชพื้นเมืองในยุคโบราณซึ่งถูกค้นพบจากเคปเวิร์ดและหมู่เกาะคานารี ทางตอนใต้ของยุโรปข้ามไปทางตะวันออกเฉียงเหนือของแอฟริกา, เมดิเตอร์เรเนียน, เอเชียตะวันตกเฉียงใต้จรดไปอินเดียตะวันออกเฉียงใต้ ลาเวนเดอร์เป็นองค์ประกอบที่สำคัญของน้ำมันหอมระเหย ตามตำรับพืชสมุนไพรโบราณ กลิ่นลาเวนเดอร์มีประโยชน์ในการผ่อนคลายความเศร้า ความเหนื่อยหน่าย และความเครียดทุกชนิด นิยมนำส่วนใบ และดอกมาทำเป็นเครื่องดื่มและผสมในไอศกรีม ทำให้แผลหายเร็ว บรรเทาอาการปวดศีรษะและกล้ามเนื้อ ในประวัติศาสตร์ชาวโรมันโบราณได้เติมลาเวนเดอร์ลงในน้ำสำหรับอาบ เป็นการใช้แทนสบู่ที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน ในสมัยโบราณ ชาวกรีก ชาวโรมัน และชาวเปอร์เซีย จะทำการเผาเปลือกไม้ลาเวนเดอร์ในห้องของผู้ป่วย และอบควันหอมภายในบ้านให้กลิ่นซึมซาบเข้าทางผิวหนัง ลาเวนเดอร์มีมูลค่าทางเศรษฐกิจสำหรับ ด้านเภสัชกรรม อาหาร และอุตสาหกรรมต่างๆมากมาย

2.1 ลาเวนเดอร์ (ธนาวุฒิ, 2558)

2.1.1 ประวัติและความเป็นมา

วงศ์ (Family)	: *Lamiaceae*
ชื่อวิทยาศาสตร์ (Sciantific name)	: *Lavandula* sp.
ชื่อสามัญ (Common name)	: ลาเวนเดอร์ (lavender)
ลักษณะทั่วไป	: เป็นพืชตระกูลเดียวกับมินต์ เป็นไม้พุ่มขนาดเล็กไม่ผลัดใบ ทุกส่วนมีกลิ่นหอม มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบเมอร์ดิเตอร์เรเนียน ขนาดทรงพุ่ม 60 – 90 เซนติเมตร ความสูง 60- 90 เซนติเมตร ใบมีสีเทาหรือสีเขียว ดอกมีสีม่วง สีชมพู สีเขียว และสีขาว
การดูแลทั่วไป	: ปลูกในสภาพกลางแจ้ง สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพดินที่เป็นกรดและด่าง ดินที่มีอินทรียวัตถุสูงและระบายน้ำได้ดี
การขยายพันธุ์	: เพาะเมล็ด ปักชำ

2.1.2 ความสำคัญและการใช้ประโยชน์

2.1.2.1 ดอกลาเวนเดอร์ ช่วยผ่อนคลายสมองและร่างกายได้ และยังมีประโยชน์ดี ๆ ต่อสุขภาพ ชาลาเวนเดอร์ช่วย

1.ต่อต้านอนุมูลอิสระ ชะลอความแก่

2.ลดระดับความดันในเส้นเลือด

3.ลดการดูดซึมไขมันในร่างกาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.เพิ่มการเผาผลาญพลังงานในร่างกายมากขึ้น

5.กระตุ้นความสามารถของสมองให้สดชื่นอยู่เสมอ

6.ดูแลสุขภาพจากภายใน ป้องกันโรคหัวใจ และโรคมะเร็ง

7.การดื่มชาลาเวนเดอร์ช่วยให้นอนหลับสบาย

2.1.2.2 ด้านเวชสำอาง

สรรพคุณของดอกลาเวนเดอร์ (Lavender) ในเรื่องเวชสำอาง เอสเซนเชียลออยล์จากดอกลาเวนเดอร์ (Lavender) จะนิยมใช้กันโดยทั่วไป ด้วยคุณสมบัติในการผ่อนคลายและระงับประสาท จึงช่วยระงับความตึงเครียดและทำให้หลับสบาย อุดมไปด้วยกลิ่นหอมผ่อนคลาย ทั้งยังเลื่องชื่อในสรรพคุณการฆ่าเชื้อ สามารถรักษาบาดแผลเล็กๆ แค่เพียงสูดดม ก็สามารถช่วยลดอาการเจ็บคอและหลอดลมได้ นอกจากนี้ ดอกลาเวนเดอร์ (Lavender) ยังสามารถใช้ผสมน้ำอาบ เพื่อรักษาอาการปวดเมื่อยตามกล้ามเนื้อ และยังช่วยฆ่าเชื้อ ต่อต้านการอักเสบ รักษาบาดแผล ผิวหนังที่ระคายเคือง พุพองได้เป็นอย่างดี

2.1.2.3 ด้านการแพทย์

ลาเวนเดอร์ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางกับสมุนไพรและน้ำมันหอมระเหย และเชื่อว่าลาเวนเดอร์สามารถบรรเทาแมลงกัด, แผลไหม้ และอาการปวดหัวได้ นอกจากนี้ ช่อลาเวนเดอร์ยังสามารถขับไล่แมลง ดอกและเมล็ดลาเวนเดอร์สามารถช่วยให้การนอนหลับนั้นผ่อนคลาย การชงยอดอ่อนของลาเวนเดอร์ลงในถ้วยน้ำร้อนก็สามารถช่วยให้นอนหลับสบาย

2.1.2.4 ด้านอุตสาหกรรม

ในศตวรรษที่ 21 นี้ ลาเวนเดอร์นั้นเป็นที่นิยมในอุตสาหกรรมมากมาย จากประโยชน์ในเรื่องของกลิ่นอันเป็นเอกลักษณ์ของมันซึ่งช่วยให้ผ่อนคลาย หลากหลายอุตสาหกรรมใช้ลาเวนเดอร์ในผลิตภัณฑ์ของพวกเขา แต่อุตสาหกรรมที่ได้รับผลประโยชน์มากที่สุดเห็นจะเป็นอุตสาหกรรมน้ำหอมและผลิตภัณฑ์บำรุงผิว เช่น สบู่, ครีม เป็นต้น

2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (คำบุญ, 2542)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant tissue culture) หมายถึง การนำส่วนหนึ่งส่วนใดของพืช ที่ประกอบด้วยเซลล์ที่มีชีวิต ซึ่งอาจจะเป็นอวัยวะ เนื้อเยื่อ เซลล์ ตลอดจน โพรโทพลาสต์(protoplast) ซึ่งได้แก่ส่วนของเซลล์พืชที่ได้แยกเอาผนังเซลล์ออกไป แล้วนำมาเลี้ยง ในสภาพปลอดเชื้อ (aseptic condition) โดยให้อาหารสังเคราะห์ และมีการควบคุมสภาพแวดล้อม ที่ควบคุม เช่น แสง อุณหภูมิ และความชื้น

Gottlieb Haberlandt ชาวเยอรมัน เป็นคนแรกที่เริ่มทำการทดลองเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ท่านได้รับการยกย่องว่าเป็นบิดาของเทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ในปี ค.ศ.1898 Haberlandt ได้ทำการทดลองโดยแยกเอาเซลล์จากใบพืชมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ และตั้งสมมุติฐานว่าเซลล์พืชเพียงเซลล์เดียวที่นำมาเลี้ยงสามารถจะแบ่งตัวและเจริญเติบโตไปเป็นพืชต้นใหม่ที่สมบูรณ์ ทุกประการได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา

เช่นเดียวกับพืชต้นเดิมแต่ยังไม่ประสบผลสำเร็จจนถึงระดับเซลล์มีการแบ่งตัว เพียงแต่พบว่าเซลล์มีการขยายขนาดขึ้นเท่านั้น ในปี ค.ศ.1930 ได้มีการพัฒนาการเลี้ยงเซลล์ที่แยกมาจากรากของพืชหลายชนิดโดยเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ต่อมาในปี ค.ศ. 1938 สามารถเพาะเลี้ยงอวัยวะ(Organ) และ แคลลัส (Callus) ของพืชได้หลายชนิดและนับตั้งแต่นั้นเป็นต้นมา เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้มีการพัฒนาไปได้อย่างกว้างขวาง และมีการค้นพบเทคนิคใหม่ๆอีกมากมายซึ่งสามารถทำการเพาะเลี้ยงพืชเซลล์เดี่ยวๆและโปรโตพลาสต์ของพืชได้หลายชนิด รวมทั้งการใช้เทคนิคทางเทคโนโลยีชีวภาพ เช่น การตัดต่อยีนส์ การถ่ายยีนส์ ฯลฯ เทคนิค การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงมีบทบาทสำคัญต่อวิทยาการแขนงอื่นๆ เช่น ชีวเคมี พันธุศาสตร์ การปรับปรุงพันธุ์พืช โรคพืช และเภสัชศาสตร์ เป็นต้น

2.2.1 ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

1. เพื่อการขยายพันธุ์

โดยอาศัยอาหารสูตรที่สามารถเพิ่มจำนวนต้นเป็นทวีคูณจากไดอะแกรมประกอบ จะเห็นว่าจากที่เราเริ่มต้นทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นพืชเพียงต้นเดียว และทำการย้ายเนื้อเยื่อเดือนละครั้ง และแต่ละเดือนต้นพืชสามารถเพิ่มจำนวนต้นได้ 10 ต้น เมื่อเวลาผ่านไปเพียง 6 เดือน เราสามารถผลิตต้นพืชในหลอดทดลองได้ถึง 1 ล้านต้น ซึ่งไม่มีวิธีอื่นใดที่จะผลิตต้นกล้าพืชให้ได้ปริมาณมากและรวดเร็วเช่นนี้

2. เพื่อการปรับปรุงพันธุ์

ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สามารถคัดเลือกสายพันธุ์พืช เพื่อการผลิตพืชพันธุ์ต้านทาน (resistant plant) สามารถที่จะชักนำให้เกิดความต้านทานขึ้นในต้นพืช โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีเงื่อนไขต่าง ๆ เช่น การสร้างพันธุ์ต้านทานต่อสารพิษของโรค ต้านทานต่อแมลง หรือต้านทานต่อยากำจัดวัชพืช เป็นต้น หรือเพื่อการผลิตพืชพันธุ์ทนทาน (tolerance plant) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถที่จะคัดสายพันธุ์ทนทานได้จากการจัดเงื่อนไขของอาหารและสภาวะแวดล้อม เช่น การคัดเลือกสายพันธุ์พืชทนเค็มจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่มีส่วนผสมของเกลือ การคัดเลือกสายพันธุ์ทนต่อดินเปรี้ยวจากการเลี้ยงในอาหารที่มีสภาพเป็นกรด การคัดสายพันธุ์ที่ทนร้อนโดยการเพาะเลี้ยงในสภาพที่มีอุณหภูมิสูง เป็นต้น โดยการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ แล้วคัดเลือกเอาสายพันธุ์ดีไว้ ซึ่งอาจทำได้โดยการใช้สารเคมี การฉายรังสี การตัดต่อยีนส์ (DNA ricombination) และการย้ายยีนส์ (gene transformation) ยังเปิดโอกาสให้สามารถใช้ประโยชน์ในการสร้างพืชสายพันธุ์ใหม่ (transgenic plants) ที่ต้องการในพืชบางชนิด

3. เพื่อการผลิตพืชที่ปราศเชื้อไวรัส (Virus-free plant propagation)

ปัญหาสำคัญประการหนึ่งของการผลิตพืช คือ โรค ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากเชื้อรา แบคทีเรีย หรือไวรัส ต้นพืชที่ผลิตได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะปราศจากเชื้อราและแบคทีเรียเป็นอันดับแรก เพราะถ้าหากว่ามีอนุภาคของเชื้อเหล่านั้นตกลงไปในอาหารเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อเยื่อ ก็จะแสดงอาการปนเปื้อนของเชื้อ (contamination) เพราะทั้งอนุภาคของแบคทีเรียและสปอร์ของราสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วบนอาหารและจะปรากฏกลุ่ม colony ของจุลินทรีย์เหล่านั้น ที่สังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า เราจึงสามารถเก็บออกมาขจัดทิ้งได้ ส่วนในกรณีของการปนเปื้อนของเชื้อไวรัส ซึ่งเป็นอนุภาคที่มีขนาดเล็กมาก และจะสามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ก็ต่อเมื่ออาศัยอยู่ในเซลล์ชนิดอื่น ฉะนั้นต้นพืชที่มีการปนเปื้อนของเชื้อไวรัสจึงไม่แสดงอาการปนเปื้อนให้เห็น สามารถทราบได้ก็ต่อเมื่อเกิดอาการบนต้นพืช ดังนั้นก่อนทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะต้องคัดเลือกและตรวจสอบเนื้อเยื่อ ชิ้นส่วนของพืชที่นับว่ามีความปลอดจากเชื้อไวรัสมากที่สุด คือ apical meristem ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อเจริญที่อยู่บริเวณปลายยอดของลำต้น และเนื้อเยื่อของคัพภะ (embryo) ที่อยู่ในเมล็ด อันเนื่องจากอนุภาคของไวรัสสามารถเคลื่อนย้ายได้ทางท่ออาหาร (phloem) และ ท่อน้ำ (xylem) แต่เนื้อเยื่อดังกล่าวไม่มีท่อน้ำและท่ออาหารที่จะติดต่อกับ ส่วนอื่น ๆ ของต้นพืช

4. เพื่อการผลิตสารทุติยภูมิ (Secondary metabolite)

พืชบางชนิดสามารถให้สารที่มีคุณสมบัติทางยา หรือมีประโยชน์ทางด้านอุตสาหกรรม แต่ในบางครั้งปริมาณเนื้อสารที่ต้องการมีอยู่ในปริมาณน้อยมาก จะต้องใช้ชิ้นส่วนพืชจำนวนมากนำมาสกัดแยก การเพาะเลี้ยงเซลล์หรือเนื้อเยื่อของพืชเหล่านั้น ในสภาพแวดล้อมและอาหารที่เหมาะสมก็อาจชักนำให้เกิดการสังเคราะห์สารที่เราต้องการได้มากขึ้น

5. เพื่อการศึกษาทางชีวเคมีและสรีรวิทยาของพืช (Biochemical and Physiology study)

ต้นพืชที่เลี้ยงในหลอดทดลองนั้นสามารถที่จะติดตามการพัฒนาและเปลี่ยนแปลงได้ง่ายและอย่างใกล้ชิด เช่น การศึกษาการตอบสนองของเนื้อเยื่อพืชต่อยาฆ่าแมลง ยาปราบศัตรูพืช หรือต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และการควบคุมตัวแปรต่าง ๆ ในหลอดทดลองทำได้ง่ายได้กว่าแปลงทดลอง

6. เพื่อการเก็บรักษาพันธุ์พืช (Germplasm conservation, gene bank)

ปัจจุบันพืชพรรณหลายชนิดได้สูญพันธุ์ไปหรือกำลังจะสูญพันธุ์ไปอย่างน่าเป็นห่วง ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมหรือเกิดจากการทำลายของมนุษย์เอง ด้วยเหตุนี้นักเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงได้พยายามคิดหาวิธีที่จะเก็บรักษาพืชพรรณต่าง ๆ ไว้ในหลอดทดลอง โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่มีส่วนผสมของสารชะลอการเจริญเติบโตบางชนิด หรือมีสารที่ทำให้เกิดความเครียดของน้ำขึ้นในหลอดทดลอง ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตในอัตราที่ช้ามาก ๆ เพื่อเป็นการประหยัดแรงงาน เวลา และอาหารในการที่จะต้องทำการย้ายเนื้อเยื่อบ่อย ๆ จนกว่าเมื่อใดที่ต้องการจะเพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อนั้นสามารถย้ายลงเลี้ยงในอาหารสูตรปกติของพืชชนิดนั้น ๆ อีกวิธีหนึ่งก็คือ การเก็บรักษาเนื้อเยื่อไว้ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไนโตรเจนเหลวที่ อุณหภูมิต่ำถึง -196 องศาเซลเซียส ในสภาพเช่นนี้เซลล์และเนื้อเยื่อจะคงสภาพและมีชีวิตอยู่ได้ยาวนาน

2.2.2 เครื่องมือ อุปกรณ์ ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (กรณ์, 2552)

อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้

อุปกรณ์ที่ใช้กับงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อค่อนข้างมีมากชนิด การจัดวางเครื่องมือต้องคำนึงถึงความสะดวกใน การใช้ต่อพื้นที่ให้เกิดประโยชน์มากที่สุดถ้ากำหนดชนิดของเครื่องมือตามตำแหน่งของการใช้งานภายในห้องปฏิบัติการ จะแบ่งออกเป็น 3 ห้องใหญ่ๆ คือ

1. ห้องเตรียมอาหาร

2. ห้องตัดเนื้อเยื่อ

3. ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ภายในแต่ละห้องจะมีอุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้งานเป็นประจำ แตกต่างกัน ไปตามลักษณะงานดังนี้

1. ห้องเตรียมอาหาร

เป็นห้องที่ใช้เก็บสารเคมีและวัสดุอุปกรณ์เพื่อการชั่งสาร หรือผสมอาหาร หม้อนึ่งความดันไอ ตู้อบความร้อนแห้ง ดังนี้

1.1 สารเคมี จัดวางในตู้หรือบนชั้นวางของอย่างเป็นระเบียบเป็นหมวดหมู่หรือตามอักษรที่สำคัญควรอยู่บริเวณเดียวกับที่วางเครื่องชั่ง

1.2 เครื่องชั่ง เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง ควรวางอยู่บนโต๊ะที่มั่นคงไม่สั่นสะเทือนง่าย

1.3 เครื่องแก้วและเครื่องมืออื่นๆ ควรมีที่เก็บมิดชิด และไม่ห่างจากอ่างน้ำมากนัก

1.4 อ่างน้ำ ใช้สำหรับล้างทำความสะอาดเครื่องมือต่างๆ เพื่อความสะดวกต่อการปฏิบัติงานอาจอยู่มุมหนึ่งของบริเวณห้อง

1.5 บริเวณเตรียมอาหาร ควรเป็นโต๊ะหรือพื้นที่ที่มีความสูงพอที่จะปฏิบัติงานในลักษณะยืนหรือนั่งก็ได้

1.6 เครื่องกรองน้ำ อาจใช้เครื่องกรองน้ำดื่มตามบ้านได้

1.7 เครื่องชั่ง มี 2 แบบ คือ เครื่องชั่งอย่างละเอียด และเครื่องชั่งอย่างหยาบ

- เครื่องชั่งอย่างละเอียด สามารถชั่งได้เป็นมิลลิกรัม หรือทศนิยม 4 ตำแหน่ง ใช้สำหรับชั่งสารเคมี วิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งใช้ปริมาณน้อยมาก

- เครื่องชั่งอย่างหยาบ ชั่งได้เป็นกรัม หรือทศนิยม 2 ตำแหน่ง ใช้สำหรับชั่งสารเคมีที่ใช้ปริมาณมาก เช่น วุ้น และน้ำตาล

1.8 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH-meter) ใช้วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหาร สังเคราะห์ควรอยู่ที่ระดับ 5.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.9 เครื่องคนสารละลาย ใช้สำหรับคนสารละลายเมื่อใส่แท่งคนไฟฟ้า (Magnetic stirror) ขณะเตรียมอาหาร

1.10 เตาต้มอาหาร อาจเป็นเตาไฟฟ้าหรือเตาแก๊ส ใช้สำหรับต้มอาหารเพื่อให้วุ้นละลาย

1.11 ตู้อบความร้อนแห้ง (Hot air oven) ใช้ในการอบฆ่าเชื้อเครื่องแก้วและอุปกรณ์ในการตัดย้าย

เนื้อเยื่อ โดยใช้อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง

1.12 เครื่องแก้ว ปัจจุบันนิยมใช้เป็นพลาสติกเพราะลดความเสียหายจากการแตกร้าวได้ค่อนข้างมาก

- ฟลาสก์หรือขวดรูปชมพู่ ขนาด 50-1,000 มิลลิลิตร

- บีกเกอร์ ใช้ปรับปริมาตรของอาหาร ขนาด 20-1,000 มิลลิลิตร

- กระบอกตวง ขนาด 5-1,000 มิลลิลิตร

- ปิเปตต์ ใช้ดูดสารละลายปริมาณน้อย ขนาด 0.1-10 มิลลิลิตร

1.13 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ใช้นึ่งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารวุ้นโดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15-20 นาที อาจเป็นแบบหม้อไฟฟ้าอัตโนมัติ หรือเป็นแบบที่ใช้ความร้อนจากเตาแก๊ส มีทั้งแบบแนวตั้งและแนวนอน หม้อแบบแนวนอนจะมีความจุมากกว่าหม้อแบบแนวตั้ง และมีราคาค่อนข้างสูง

- หม้อนึ่งความดันไอแบบใช้ไฟฟ้าแนวตั้ง เป็นแบบที่ได้รับความนิยม มีใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเกือบทุกแห่ง

- หม้อนึ่งความดันไอ แบบใช้ไฟฟ้าแนวนอน สามารถนึ่งอาหารได้ปริมาณมากกว่าหม้อแบบแนวตั้ง

- หม้อนึ่งความดันไอ แบบใช้แก๊ส ใช้หลักการเดียวกับหม้อนึ่งเชื้อเห็ดประสิทธิภาพการทำงานสูงหรือต่ำขึ้นอยู่กับผู้ปฏิบัติงาน สามารถควบคุมอุณหภูมิ และความดันให้คงที่ตามกำหนดเวลาได้หรือไม่

2. ห้องตัดเนื้อเยื่อ

เป็นห้องที่มีเจ้าหน้าที่ปฏิบัติงานมากที่สุดศูนย์รวมของกิจกรรมเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะอยู่ในห้องนี้ ควรเป็นห้องที่มีระบบป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อ ผิวพื้นห้องทุกด้านทั้งฝาผนัง พื้นห้อง ควรมีผิวเรียบมัน ไม่เป็นที่สะสมของฝุ่นละออง ทำความสะอาดง่าย วัสดุอุปกรณ์ที่อยู่ในห้องนี้จะประกอบไปด้วยตู้ตัดเนื้อเยื่อ จำนวนมากน้อยเป็นไปตามปริมาณการผลิตของแต่ละแห่ง ดังนี้

2.1 ตู้ตัดเนื้อเยื่อ

เป็นตู้ปลอดเชื้อที่ใช้กับงานตัดย้ายชิ้นพืช มีระบบการหมุนเวียนของอากาศภายในตู้ที่สะอาด ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ตลอดเวลาของการปฏิบัติงาน ด้วยระบบการถ่ายเทอากาศผ่าน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แผ่นกรองที่มีรูพรุน ขนาดเล็กประมาณ 0.3 ไมครอน ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถเล็ดลอดผ่านได้ ทั้งนี้ควรเช็ดทำความสะอาดตู้ทั้งก่อนปฏิบัติงานและหลังเลิกงานในแต่ละวัน โดยเช็ด ออกด้านนอกตู้เสมอด้วยแอลกอฮอล์ 70% รวมทั้งการเปลี่ยนแผ่นกรองเชื้อจุลินทรีย์ตามกำหนดเวลา เพื่อรักษาประสิทธิภาพความเป็นตู้ปลอดเชื้อ

2.2 วัสดุหรือเครื่องมือที่ใช้ตัดเนื้อเยื่อ ได้แก่

- มีดผ่าตัด นิยมใช้ด้ามมีดเบอร์ 3 กับใบมีดเบอร์ 10 หรือ11
- ปากคีบ (forcepts) ใช้หนีบจับชิ้นพืช มีขนาดความสั้นยาว
- ตะแกรงสำหรับวางมีดและปากคีบ
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- จานรองหรือกระดาษ ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วใช้รองตัดชิ้นเนื้อเยื่อ

วัสดุเหล่านี้ก่อนนำมาตัดเนื้อเยื่อต้องทำการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์โดยการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอหรือการอบความร้อนแห้ง ภายหลังสิ้นสุดการปฏิบัติงานทุกครั้งต้องนำเครื่องมือเหล่านั้นมาล้างให้สะอาดด้วยน้ำยาล้างจาน เช็ดให้แห้ง ห่อด้วยกระดาษตะกั่วแล้วจึงนำไปฆ่าเชื้อจุลินทรีย์เพื่อการนำมาใช้ใหม่ในครั้งต่อไป

2.3 อุปกรณ์อื่น ๆ ได้แก่

1. เก้าอี้มีพนักสำหรับพนักงานตัดเนื้อเยื่อ
2. รถเข็นสำหรับวางขวดอาหาร ขวดเนื้อเยื่อพืช
3. อุปกรณ์ดับเพลิง ควรมีประจำทุกชั้นและทุกห้อง โดยเฉพาะห้องตัดเนื้อเยื่อเพราะขณะปฏิบัติงาน มีการลนไฟฆ่าเชื้อวัสดุอุปกรณ์ตลอดเวลา อาจเกิดอุบัติเหตุไฟลุกไหม้ภายในตู้ได้

3. ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เป็นห้องปลอดเชื้อ ใช้เป็นสถานที่วางขวดเนื้อเยื่อพืช เป็นห้องที่ไม่ควรอนุญาตให้ผู้ที่ไม่มีหน้าที่เกี่ยวข้องเข้าออกโดยเด็ดขาดเพราะจะทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในขวดเนื้อเยื่อพืช อาจทำให้เกิดความเสียหายกับต้นพันธุ์พืชในภาพรวมได้ อุปกรณ์ที่สำคัญที่ติดตั้งอยู่ในห้อง ได้แก่

3.1 ชั้นวางเนื้อเยื่อ

วัสดุที่ประกอบเป็นชั้นอาจทำด้วยไม้ เหล็กฉาก แสตนเลส หรืออลูมิเนียมเป็นต้น ขนาดกว้าง x ยาว x สูง ประมาณ 60 x 125 x 200 มีชั้นวาง 5 ชั้น แต่ละชั้นห่างกันประมาณ 30 เซนติเมตร โดยส่วนที่ทำเป็นพื้นควรจะเป็นกระจกหรือฟอร์ไมก้าสีขาว หรือเป็นตาข่ายโปร่ง มีหลอดไฟฟ้าที่ให้ความสว่างแก่พืชเพื่อการสังเคราะห์แสง นิยมใช้หลอดไฟที่เรียกว่า Grolux เพราะมีคุณสมบัติของการให้แสงสีแดง ซึ่งเหมาะกับการสังเคราะห์แสงของพืช แต่หลอดชนิดนี้มีราคาค่อนข้างสูง จึงอาจใช้หลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ ชนิดธรรมดาที่ใช้กับอาคารบ้านเรือนก็ได้ ทั้งนี้การติดตั้งหลอดไฟควรให้หลอดอยู่ห่างจากชั้นวางเนื้อเยื่อในระยะประมาณ 20 เซนติเมตร และแต่ละหลอดอยู่ห่างกันประมาณ 30 เซนติเมตร เพื่อให้ได้ความเข้มแสง 2,000-3,000 ลักซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อวัดด้วยเครื่องมือ ที่เรียกว่า Lux meter โดยเปิดไฟติดต่อกันนาน 16 ชั่วโมงต่อวัน จึงควรมีนาฬิกาควบคุมการปิด-เปิดไฟฟ้า(timer)

3.2 เครื่องเขย่าแบบโยก

ใช้สำหรับเนื้อเยื่อพืชที่เลี้ยงในอาหารเหลว มีลักษณะการเคลื่อนที่ในแนวขนานกับพื้นโลกอัตรา 100-150 รอบต่อนาที เป็นการเพิ่มออกซิเจนลงไปในอาหาร เพื่อให้เนื้อเยื่อพืชได้รับออกซิเจนอย่างเพียงพอต่อการเจริญเติบโต

2.2.3 หลักการและวิธีการ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชวิธีหนึ่ง แต่มีการปฏิบัติภายใต้สภาพที่ควบคุม เรื่องความสะอาดแบบปลอดเชื้อ อุณหภูมิ และแสง ด้วยการนำชิ้นส่วนของพืชที่ยังมีชีวิต เช่น ลำต้น ยอด ตาข้าง ก้านช่อดอก ใบ ก้านใบ อับละอองเกสร เป็นต้น มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ และชิ้นส่วนนั้นสามารถเจริญและพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ มีทั้งส่วนใบ ลำต้น และรากที่สามารถนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้ที่ผ่านมามีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชประยุกต์ใช้กับงานด้านเภสัชวิทยา และชีววิทยา แต่ปัจจุบันมีการพัฒนา และนำมาใช้แก้ปัญหาหรือเพื่อประโยชน์ในภาคเกษตร และภาคอุตสาหกรรมกันมากขึ้น เช่น การนำเมล็ดไผ่มาผลิต-ขยายด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เมื่อครั้งเกิดเหตุการณ์ไผ่ออกดอกประมาณปี 2538 หรือการนำหน่อที่มีคุณลักษณะที่ดีของหน่อไม้ฝรั่งมาผลิต-ขยายด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อลดปัญหาการใช้เมล็ดซึ่งมีการคละเพศ นอกเหนือจากราคาของเมล็ดพันธุ์ที่ค่อนข้างสูง และยังต้องนำเข้าจากต่างประเทศอีกด้วย เป็นต้น

ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่สำคัญ มีดังนี้

1. เลือกส่วนของพืชที่ต้องการ เพื่อนำมาเลี้ยงด้วยวิธีที่เหมาะสม โดยรักษาสภาพเนื้อเยื่อ หรืออวัยวะนั้น ให้อยู่ในสภาพ ที่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้

2. จัดเตรียมอาหารสังเคราะห์และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม สำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เลือกไว้เพื่อให้มีการเจริญเติบโตได้ ตามจุดมุ่งหมาย

3. กำจัดเชื้อที่ติดมากับส่วนของพืช อาหารสังเคราะห์ อุปกรณ์ที่ใช้ ตลอดจนสภาพแวดล้อมในการเลี้ยงให้อยู่ในสภาวะปลอดเชื้อ กล่าวคือ ให้ปราศจากจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย รา ฯลฯ ที่อาจปนเปื้อน ทั้งนี้เพื่อป้องกันผลกระทบจากจุลินทรีย์เหล่านั้น ที่นอกจากจะแย่งอาหารแล้วยังอาจสร้างสารยับยั้งหรือรบกวนการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชอีกด้วย

เนื่องจากการเลือกส่วนของพืช ที่จะนำมาเลี้ยง มีผลโดยตรง ต่อความสำเร็จ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ดังนั้น การเลือกส่วนของพืชจึงเป็นสิ่งแรกๆ ที่ควรพิจารณา ซึ่งต้องใช้ความรู้เกี่ยวกับส่วนต่างๆ ของพืชว่า ประกอบด้วยเซลล์และเนื้อเยื่อ ที่มีสมบัติแตกต่างกัน ทั้งในด้านลักษณะ และภาวะ ทางสรีรวิทยา การเจริญเติบโต หรือในบางกรณีจำนวนชุดของโครโมโซม ภายในเซลล์ อันส่งผลต่อ การเจริญที่คาดว่าจะได้รับ ตัวอย่างเช่น เนื้อเยื่อเจริญที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปลายยอดทำหน้าที่แบ่งเซลล์เพื่อการเติบโตของยอดตามธรรมชาติ เมล็ดมีเอ็มบริโอที่พร้อมจะเจริญเป็นต้นกล้าส่วนของต้นกล้าประกอบด้วยเนื้อเยื่อที่ยังอ่อนอยู่ และกำลังมีการเจริญ ตาข้างบนลำต้นจะเจริญไปเป็นกิ่ง ตลอดจน ช่อดอกอ่อน เหล่านี้ก็สามารถนำมาเลี้ยง และให้ผลดีกว่าส่วนของพืช ที่มีการเจริญจำกัด เช่น แผ่นใบ กลีบดอก เนื้อ และเปลือกผล ซึ่งเมื่อนำมาเลี้ยง อาจเติบโตได้เพียงระยะเดียว เว้นแต่จะกระตุ้นการเจริญด้วยการใช้สารควบคุมการเจริญ ได้แก่ ออกซิน และไซโทไคนิน ซึ่งจะสามารถชักนำให้เนื้อเยื่อถาวรกลับมามีสมบัติเป็นเนื้อเยื่อเจริญได้ใหม่ และแบ่งเซลล์เจริญเติบโตได้อีกครั้ง ส่วนต่างๆ ของพืชโดยทั่วไปประกอบด้วยเซลล์ที่มีโครโมโซม ๒ ชุด (2n) แต่ในบางส่วนของเนื้อเยื่อ และบางระยะของการเจริญเติบโตของพืช จะมีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ที่มีจำนวนโครโมโซม ลดลงครึ่งหนึ่ง ได้แก่ เซลล์ในอับเรณู และเซลล์ในออวูลภายในรังไข่ที่ยังไม่ได้รับการผสม เซลล์เหล่านี้ เมื่อนำมาเลี้ยง จะมีโอกาสได้ต้นพืช ที่มีจำนวนโครโมโซมลดลงครึ่งหนึ่ง สำหรับราก และส่วนที่เจริญใกล้ดิน ตลอดจนส่วนอื่นๆ ที่มีผิวไม่เรียบ หรือมีขนปกคลุมนั้น จำเป็นจะต้องระมัดระวังเรื่องการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์เป็นกรณีพิเศษ ตรงข้ามกับ ส่วนของพืชที่อยู่ภายใน หรือมีโครงสร้างบางอย่างห่อหุ้มไว้ เช่น เมล็ดที่อยู่ภายในผล เนื้อเยื่อเจริญที่ปลายยอด ซึ่งมีใบอ่อน หุ้มอยู่เป็นชั้นๆ ส่วนที่อยู่ภายในมักสะอาดกว่าส่วนที่สัมผัสกับภายนอก

ในกรณีที่ต้องการเลี้ยงโพรโทพลาสต์เพื่อวัตถุประสงค์ในการรวมโพรโทพลาสต์ หรือแทรกใส่สารพันธุกรรม หรือยีน (gene) เข้าไปในโพรโทพลาสต์ จะมีขั้นตอนของการเตรียมโพรโทพลาสต์ โดยอาจเตรียมจาก การนำใบ ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้ว มาลอกผิวใบ ที่มีไขเคลือบอยู่ออกไป หรือใช้ใบหรือกลุ่มเซลล์ ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้ออยู่แล้ว ตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ แช่ในสารละลาย ที่มีเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์ และมีการปรับสภาพเพื่อป้องกันไม่ให้โพรโทพลาสต์แตก โดยเอนไซม์จะย่อยผนังเซลล์ซึ่งอยู่ภายนอก ผลที่ได้คือ โพรโทพลาสต์ที่มีเพียงเยื่อหุ้ม จะถูกคัดแยก ไปเลี้ยงในอาหาร ที่เหมาะสม เพื่อใช้ตามวัตถุประสงค์ต่อไป

การเตรียมอาหาร

การปฏิบัติงานภายในห้องเตรียมอาหาร จะเริ่มต้นจากการชั่งสารตามอาหารสูตรที่ต้องการผสมเป็นสต็อกสารละลาย ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง หลอมอาหาร และบรรจุขวดก่อนนึ่งฆ่าเชื้อเพื่อรอการนำไปใช้ตามลำดับดังนี้

1. ชั่งสารเคมี เป็นขั้นตอนที่สำคัญขั้นตอนหนึ่ง ต้องการความแม่นยำสูง โดยเฉพาะสารเคมีที่ใช้ปริมาณน้อย จึงต้องชั่งด้วยเครื่องชั่งอย่างละเอียด สามารถชั่งได้ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

2. สำหรับสารเคมีที่ใช้ปริมาณมาก จะชั่งด้วยเครื่องชั่งอย่างหยาบ ชั่งได้ทศนิยม 2 ตำแหน่ง เช่น น้ำตาลหรือวุ้น

3. ผสมสารเคมี ต้องทำให้ส่วนประกอบของสารเคมีละลายผสมเข้ากันได้หมด โดยใช้เครื่องคนสารละลายร่วมกับแท่งคนไฟฟ้า

4. วัดความเป็นกรด-ด่าง (pH) ให้ปรับใช้ที่ระดับ 5.6 ซึ่งเหมาะสมต่อการที่พืชจะนำธาตุอาหารไปใช้ในการเจริญเติบ แต่ในอาหารบางสูตรอาจใช้ที่ระดับ pH 5 เช่น อาหารกล้วยไม้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. หลอมอาหาร เมื่อผสมอาหารเสร็จเรียบร้อยแล้ว นำมาหลอมวุ้นให้ละลายบนเตาแก๊สหรือไมโครเวฟ

6. กรอกอาหาร ลงภาชนะต่างๆ เช่นขวดหรือถุงหรือกล่องพลาสติก เป็นต้น แต่ภาชนะที่ต้องทนความร้อน และสิ่งที่ต้องระมัดระวังขณะกรอกอาหาร คือ พยายามอย่าให้อาหารเลอะปากภาชนะ เพราะเป็นสาเหตุของการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ได้ง่าย

7. อาหารวุ้นในขวด กรอกอาหารลงขวดขนาด 4 ออนซ์ (ขวดน้ำพริกเผา) ปริมาณอาหารที่กรอกขวดละ20-25 มิลลิลิตร (1 ลิตรกรอกได้ประมาณ 40-45 ขวด) ปิดฝาให้สนิทนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

8. อาหารวุ้นในถุง กรอกอาหารลงถุงขนาด 4*6 นิ้ว (ถุงร้อน) ปริมาณอาหารที่กรอกถุงละ30-35มิลลิลิตร (1 ลิตร กรอกได้ประมาณ 25-30 ถุง) นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

9. นำอาหารวุ้นเข้าหม้อนึ่งความดันไอ เพื่อนึ่งฆ่าเชื้อ เมื่อเตรียมอาหารเรียบร้อยแล้ว ควรทำให้ปลอดเชื้อภายในวันเดียวกัน ด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15-20 นาที (เวลาอาจปรับเปลี่ยนตามขนาดของภาชนะและปริมาตรของอาหาร) เมื่อนึ่งฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว รีบนำอาหารออกจากหม้อนึ่งความดันไอทันทีที่ความดันลดลงเป็น 0 ถ้าเป็นขวดควรปิดฝาให้แน่นเนื่องจากฝาขวดอาจขยายตัว เมื่อผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว และควรเก็บไว้ ประมาณ 1 สัปดาห์ก่อนนำไปใช้ เพื่อตรวจสอบอีกครั้งว่า ไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์

10. สต๊อกอาหารวุ้นผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เก็บไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ ก่อนนำมาใช้

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

จะเป็นการตัดย้ายเนื้อเยื่อไปเลี้ยงบนอาหารใหม่ ซึ่งต้องอาศัยเทคนิคปลอดเชื้อ เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการ ต้องเตรียมตัวให้อยู่ในสภาพที่พร้อมทำงานตั้งแต่ทำความสะอาด มือและแขนด้วยสบู่ สวมผ้าคลุมผม ใส่ถุงมือ ผ้าปิดปากปิดจมูก และสวมชุดปฏิบัติการ เป็นต้น ตามลำดับ ดังนี้

1. การรักษาความสะอาดด้วยการล้างมือให้สะอาดด้วยสบู่ และสวมชุดปฏิบัติการประกอบด้วยถุงมือ ผ้าคลุมผม ผ้าปิดปากปิดจมูก และเปลี่ยนรองเท้าก่อนเข้าห้องปฏิบัติการทุกครั้ง

2. เช็ดทำความสะอาด ตู้ปลอดเชื้อก่อนใช้งานและควรเปิดสวิทซ์ตู้ให้ระบบต่างๆ ภายในตู้ทำงานก่อนปฏิบัติงาน 15-30 นาที

3. วางอุปกรณ์ที่ใช้ตัดเนื้อเยื่อในตำแหน่งที่เหมาะสมและสะดวกต่อการปฏิบัติงาน

4. การลนไฟเครื่องมือที่ใช้ปฏิบัติงานเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ก่อนเริ่มตัดเนื้อเยื่อ

5. ตัดเนื้อเยื่อปลายยอด apical meristem ในกรณีที่ผลิตปลอดโรค

6. ตัดเนื้อเยื่อระยะเพิ่มปริมาณภายในตู้ปลอดเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. นำชิ้นพืชที่ตัดแบ่งวางเลี้ยงบนอาหารในขวดก่อนปิดฝา

8. ลนไฟปิดปากถุง

9. ลงบันทึกชนิดพืชและ วัน/เดือน/ปี ที่ตัดย้าย

10. เนื้อเยื่อพืชพร้อมนำเข้าเรียงบนชั้นในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ควบคุมแสงและอุณหภูมิ

11. ตรวจสอบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์หากพบจะต้องเก็บทิ้งทันที

12. บันทึกรายละเอียดและลักษณะของชิ้นพืช

13. เตรียมส่งพืชเนื้อเยื่อออกปลูกในสภาพโรงเรือนเมื่อต้นพันธุ์พืชเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ผลิตได้ครบจำนวนตามเป้าหมาย จะถูกจัดเตรียมเพื่อนำออกปลูก ในสภาพโรงเรือน

2.3 อาหารสังเคราะห์สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน, 2550)

อาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายชนิด ทั้งนี้ขึ้นกับความเหมาะสมต่อชนิดของพืช พันธุ์ ตลอดจนชนิดและสภาพของชิ้นส่วนพืชที่จะนำมาเลี้ยง อย่างไรก็ตามอาหารที่นิยมใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมากที่สุด คือ อาหารที่ดัดแปลงมาจากอาหารที่ใช้ได้ดีในการเลี้ยงกลุ่มเซลล์หรือแคลลัส ซึ่งเป็นกลุ่มของเซลล์ที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงพัฒนามีช่องว่างในเซลล์จำนวนมาก และเซลล์ยังไม่มีการจัดรูปร่างที่แน่นอน ทั้งนี้เนื่องจากการเลี้ยงแคลลัสและเซลล์แขวนลอยของพืชส่วนใหญ่เกือบทุกชนิดทำได้ง่ายกว่าการเลี้ยงจากส่วนอื่น ๆ แคลลัสเหล่านี้ได้จากการเลี้ยงชิ้นส่วนพืชในอาหารกึ่งแข็งที่อย่างน้อยที่สุดประกอบด้วยเกลือของธาตุอาหารที่ต้องการครบ คือ สารประกอบอนินทรีย์ และสารประกอบอินทรีย์ ในปริมาณที่ค่อนข้างสูง แม้พืชทั้งต้นจะมีความต้องการขั้นพื้นฐานในการเจริญเติบโตไม่ซับซ้อนมากนักก็ตาม แต่การนำชิ้นส่วนของพืชมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์นั้น มีความต้องการธาตุอาหารและสารบางอย่างที่จำเป็นที่มีความซับซ้อนมากกว่า คือ ต้องการทั้งธาตุอาหารหลัก (macro-elements/nutrients) และธาตุอาหารรอง (micro-elements/nutrients) ที่ใช้ตามปกติในการเลี้ยงพืชในสารละลาย นอกจากนั้นยังต้องการธาตุอาหารอื่น ๆ เช่น แหล่งของธาตุคาร์บอน และวิตามินอย่างมาก ปกติแล้วเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืชที่แยกมาเลี้ยงจะต้องการวิตามิน และ สารควบคุมการเจริญเติบโต (growth regulators) ต่าง ๆ ซึ่งปกติสังเคราะห์ได้เองจากส่วนหนึ่งของต้นเพื่อไปสะสมไว้ยังอีกส่วนหนึ่งของต้นพืช แล้วเคลื่อนย้ายไปยังส่วนอื่น ๆ เพื่อใช้ในกระบวนการเมตาโบลิซึม อย่างไรก็ตาม ผลของแต่ละสารประกอบที่จำเป็นนี้ยังไม่เป็นที่ทราบชัดสมบูรณ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของสารที่ได้จากกระบวนการเมตาโบลิซึม (secondary metabolites) เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของ อาหารสูตรที่ใช้มักถูกดัดแปลงไปตามความมุ่งหมาย เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของเซลล์ และการเปลี่ยนแปลงพัฒนาเพื่อกำเนิดอวัยวะ (organogenesis) หรือการกำเนิดคัพภะ (embyogenesis) จึงทำให้ยากต่อการหาข้อสรุปพื้นฐานที่สอดคล้องไปในทางเดียวกันได้โดยง่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.1 ประเภทของอาหาร

1. สารละลายอาหารให้มีสภาพเป็นของแข็งมากขึ้น โดยนึ่งใน หม้อนึ่งความดันเพื่อหลอมละลายอาหารแล้วเทใส่ภาชนะและทิ้งให้แข็งตัวอยู่ในสภาพ อาหารกึ่งแข็ง แต่มักพบว่าคุณสมบัติต่าง ๆ ของสารประกอบเคมีในอาหารอาจไม่ได้รับสูงสุดเท่ากับอาหารเหลว (liquid medium) กระนั้นก็ตามวุ้นยังคงถูกนำมาใช้แต่จำเป็นต้องดัดแปลงให้เหมาะสม และต้องแน่ใจว่ามีความบริสุทธิ์จริง ๆ ในทางปฏิบัติแนะนำให้ล้างด้วยน้ำกลั่นบริสุทธิ์อย่างน้อย 3 ครั้ง รายงานว่าการเจริญเติบโตของถั่ว Pea abies จะดีที่สุดในอาหารแข็งที่ใช้วุ้น Difco Purified agar ขณะที่ Difco Noble agar ซึ่งผ่านการฟอกใสมากกว่าจะให้ผลที่ไม่ดีเท่า และการใช้วุ้นปริมาณมากเกินไปอาจไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อได้ ดังนั้นความเข้มข้นของวุ้นที่พอเหมาะสำหรับอาหารแต่ละชนิดจะต้องมีการทดสอบเสียก่อน อย่างไรก็ตาม ความเข้มข้นที่ใช้กันแพร่หลายและได้ผลดีเพื่อวัตถุประสงค์ส่วนใหญ่ คือ 0.8 % สารสังเคราะห์พวก gelatin และ silica gel ได้เคยมีการใช้ และในปัจจุบันมี การพัฒนาสารประกอบพวก acrylamide gels เช่นเดียวกับ starch co-polymers ก็มีการแนะนำมาใช้แทนวุ้น สารเหล่านี้มีข้อดีที่ไม่จำเป็นต้องต้มให้เดือดเพื่อช่วยให้ละลายน้ำได้ แต่ยังมีปัญหาในเรื่องการปรับค่า pH ในขณะที่สารพวกผงถ่าน (charcoal) ถูกเติมในอาหารหลายสูตร เพื่อช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโต เนื่องจากสามารถดูดซับสารพิษพวก toxic metabolites ที่เกิดจากเนื้อเยื่อพืชที่เลี้ยงได้ดี

2. อาหารเหลว (liquid medium) อาหารเหลวเป็นที่นิยมใช้อย่างกว้างขวาง เนื่องจากเนื้อเยื่อจะจมหรือแขวนลอยอยู่บนกระดาษกรองที่จุ่มในอาหารเหลวตลอดเวลา ในทางปฏิบัติอาจจะใช้ glass wool ช่วยพยุงเนื้อเยื่อที่เลี้ยงได้เช่นกัน เช่นเดียวกับการใช้ fabric support (100 % polyester) ที่อิ่มตัวด้วยอาหารเหลว ซึ่งจะช่วยในการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานเกิดได้ดีขึ้น เนื้อเยื่อที่จมอยู่ในอาหารเหลวอาจถูกคนที่ความเร็ว 1 - 150 รอบต่อนาที (rpm) เพื่อช่วยในการหายใจ

2.3.2 ส่วนประกอบของอาหาร (media constituents)

อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จะประกอบด้วยธาตุอาหารต่าง ๆ ที่พืชต้องการอย่างครบถ้วน จึงขอกล่าวส่วนประกอบของอาหาร ดังต่อไปนี้

1.น้ำ (water)

ประมาณ 95 % ของอาหารเป็นน้ำ ในการทำงานวิจัยควรใช้น้ำกลั่นจาก เครื่องกลั่นแก้ว เครื่องกลั่นควรได้รับการทำความสะอาดอย่างสม่ำเสมอ และควรบรรจุน้ำกลั่นใน ขวดพลาสติก

2.วุ้น (agar)

เนื้อเยื่อส่วนมากจะเลี้ยงในอาหารแข็งที่มีวุ้น ซึ่งหน้าที่ช่วยพยุงเนื้อเยื่อให้ตั้งอยู่ได้บนอาหาร ในกรณีที่เลี้ยงในอาหารเหลวจะวางบนเครื่องเขย่า หรือเลี้ยงบนสะพานกระดาษกรอง (filter paper bridge) เพื่อให้เนื้อเยื่อได้รับอากาศเพียงพอ วุ้นเป็นส่วนประกอบแพงที่สุด ในอาหารผลิตจากสาหร่ายทะเลทำให้อาหารแข็งตัว วุ้นเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) มีโมเลกุลใหญ่ วุ้นที่มีคุณภาพสูง เช่น difcoitek Agar มีราคาแพงมากปราศจากสิ่งเจือปน ในห้องปฏิบัติการบางแห่งใช้วุ้นประกอบอาหารแทนได้ วุ้นจาก Difco Bacto มักใช้ในปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0.6 - 1.0 % เหมาะสำหรับการเลี้ยงแคลลัส ส่วนอะกาโรสเจล (agarose gel) หรือวุ้นสังเคราะห์ใช้เลี้ยงเซลล์เดี่ยวหรือโพรโทพลาสต์ วุ้นสังเคราะห์เหล่านี้จะทำให้เกิดปัญหาการฉ่ำน้ำ (vitrification) ของเนื้อเยื่อพืช ผลิตภัณฑ์ใหม่ของบริษัทซิกมา (Sigma) ชื่อ อะการ์เจล (Agargel) ช่วยลดปัญหานี้ได้ การใช้วุ้นในปริมาณที่ต่ำ (0.5 %) จะทำให้อาหารไม่แข็งตัวไหลไปมาได้ โดยเฉพาะเมื่อมีpHต่ำจึงไม่สามารถพยุงเนื้อเยื่อพืชไว้ได้ แต่ถ้าใช้วุ้นในปริมาณที่สูง (1.0 %) จะทำให้อาหารแข็งมากจนไม่สามารถให้น้ำเพียงพอสำหรับการเจริญเติบโตของพืช และยังทำให้พืชดูดอาหารไปใช้ได้ยาก

3.แหล่งให้ธาตุคาร์บอน (carbon sources)

เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของอาหารทุกสูตร เป็นแหล่งพลังงานที่จำเป็นมากต่อ การเจริญเติบโต เนื่องจากเนื้อเยื่อพืชยังไม่มีการสังเคราะห์แสงในสภาพหลอดแก้ว หรือมี การสังเคราะห์แสงในอัตราที่ต่ำเพราะได้รับแสงน้อย และมีปริมาณของคาร์บอนไดออกไซด์จำกัด น้ำตาลที่นิยมใช้ คือ ซูโครส (sucrose) ซึ่งเป็นชนิดเดียวกับที่พืชสังเคราะห์ได้เอง และ มีความจำเป็นอย่างมากต่อเนื้อเยื่อพืชเกือบทุกชนิด โดยปกติมักใช้ในปริมาณ 1 - 5 % และมีหลักฐานชี้ว่าการสร้างสารเมตาโบไลท์บางชนิดในเนื้อเยื่อที่เลี้ยง เป็นผลมาจากความเข้มข้นของซูโครส สำหรับน้ำตาลชนิดอื่น เช่น กลูโคส (glucose) และฟรุคโตส (fructose) มีการใช้บ้างปริมาณที่ใช้ขึ้นอยู่กับชนิดและอายุของพืช โดยทั่วไปพืชจะเจริญเติบโตดีขึ้นเมื่อได้รับปริมาณ น้ำตาลเพิ่มขึ้นจนถึงจุดหนึ่ง จากนั้นการเพิ่มปริมาณน้ำตาลมากขึ้นอีกจะลดการเจริญเติบโตลง น้ำตาลอาจเปลี่ยนรูปได้เมื่อถูกนึ่งฆ่าเชื้อ นอกจากนี้น้ำตาลพอลิแซ็คคาไรด์อาจเปลี่ยนเป็น มอโนแซ็ดคาไรด์ เมื่อเกิดการแยกสลายด้วยน้ำ (hydrolysis)

4.เกลืออนินทรีย์ (inorganic salt)

ธาตุอาหารมีความสำคัญในการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อรองลงมาจากน้ำตาล แยกออกได้เป็นธาตุอาหารที่พืชต้องการมาก และธาตุอาหารที่พืชต้องการน้อย แม้ว่าอาหารสูตรเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในระยะแรกจะเหมาะสมต่อการเลี้ยงเซลล์และแคลลัส แต่ในระยะต่อมา เช่น สูตรของ Murashige and Skoog (MS), Gamborg B-5 และของ Miller ได้รับการพัฒนาให้เหมาะต่อการเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของพืชได้กว้างขวางมากขึ้น ทั้งยังมีผลดีอย่างมากในการกระตุ้นการกำเนิดอวัยวะ โดยมีการกำหนดปริมาณเกลืออนินทรีย์ให้เหมาะต่อการเจริญของเซลล์ที่เลี้ยงแต่ละพืช และในบางกรณีเฉพาะต่อแต่ละพันธุ์ โดยปกติสารละลายเกลืออนินทรีย์ของ Murashige and Skoog (MS-salt solution) ถูกใช้เป็นส่วนผสมหลักเพื่อการเจริญเติบโตของเซลล์ที่เลี้ยง สาเหตุหนึ่งคือ เกลือสูตรนี้มีความเข้มข้นสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง NH4 อิออน และ ธาตุอื่น ๆ บางชนิดมีปริมาณที่สูงมาก ซึ่งจำเป็นต่อเนื้อเยื่อพืชเกือบทุกชนิดที่จะพัฒนา ทั้งยังพบว่า NaH2PO4.2H2O ในอาหารสูตร MS ยังให้ผลดีแก่เนื้อเยื่อพืชบางชนิด ธาตุอาหารรองที่ใช้ในอาหารสูตรโดยปกติมีการเจือปนของธาตุอื่นและให้ ธาตุอาหารหลัก N, P และ K เพิ่มเติมในปริมาณที่น้อยมาก แต่คุณภาพของธาตุอาหารรองเองก็มีส่วนสำคัญไม่น้อย ในเกลือสูตร MS นั้น มีปริมาณธาตุอาหารรองค่อนข้างสูงเป็นพิเศษเมื่อเทียบกับสูตรอื่น โดยเฉพาะการมีสาร chelating agents เช่น EDTA ยังเป็นหลักประกันว่า ธาตุเหล็กจะมีประโยชน์ในปริมาณที่มากพอ แม้ว่าจะมี pH เปลี่ยนแปลงไปอย่างมากก็ตาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.วิตามิน (Vitamins)

พืชสามารถสังเคราะห์วิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตได้ทุกชนิด แต่เซลล์พืชที่เลี้ยงในสภาพหลอดแก้วต้องการวิตามินเพิ่ม โดยเฉพาะวิตามินบี 1 เพื่อช่วยในการพัฒนา ให้เป็นปกติ วิตามินที่ใช้ เช่น วิตามินบี 1 (thiamine 0.1-0.5 มก/ล.) วิตามินบี 5 (pantothenic acid 0.5-2.5 มก/ล.) วิตามินเอ็ม (folic acid 0.1-0.5 มก/ล.) วิตามินบี 2 (riboflavin 0.1-10.0 มก/ล.) วิตามินเอช (biotin 0.01-1.00 มก/ล.) และวิตามินอี (tocopherol 1-50 มก/ล.) ถึงอย่างวิตามินในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้น มีลักษณะที่ใช้ตามกันมากกว่าจะมีการพิสูจน์หรือทดสอบก่อนว่ามีความจำเป็นอย่างแท้จริงหรือไม่ มีเพียง thiamine-HCl เท่านั้นที่ดูจะมีความจำเป็น และเป็นที่ต้องการในการเจริญเติบโตหรือการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐาน (morphogenesis)

6.ความเป็นกรดและด่างของอาหาร (pH of nutrient medium)

pH ที่เหมาะสมของอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอยู่ในช่วง 5.0-6.5 ถ้าต่ำมากไป (<4.5) หรือสูงมากเกินไป (>7.6) จะทำให้พืชหยุดการเจริญเติบโต ถ้า pH สูงกว่า 6 จะทำให้อาหารแข็งมาก ถ้า pH ต่ำกว่า 5.2 อาหารวุ้นจะอ่อนตัว ไม่เหมาะในการพยุงเนื้อเยื่อพืช นอกจากนี้จากการศึกษาพบว่าผลในการกระตุ้นการเจริญเติบโตและ การเลือกกระตุ้นของอาหารที่ใช้เลี้ยงนั้นจะขึ้นอยู่กับ pH ด้วย ที่มีค่าสูงหรือต่ำเกินไปควรหลีกเลี่ยงเพราะจะไปขัดขวางความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหาร ตัวอย่าง pH ที่เป็นด่าง (>7.0) หรือเป็นกรดจัด (<4.0) ทำให้กรดจิบเบอเรลลินไม่เป็นประโยชน์ได้ การเติมสารประกอบ EDTA ลงในอาหารอาจมีความสำคัญในการรักษาความเป็นประโยชน์ของธาตุเหล็กและธาตุโลหะอื่น ๆ เนื่องจาก pH จะเปลี่ยนแปลงไปตลอดเวลาขณะเพาะเลี้ยง

7.สารอินทรีย์ (organic salt)

ก. สารอินทรีย์จากผักหรือผลไม้ที่สำคัญมากคือ น้ำมะพร้าว น้ำส้ม น้ำมะเขือเทศ สารสกัดจากยีสต์ น้ำแอปเปิล กล้วยบด สารเหล่านี้ไม่ควรใช้ในงานวิจัย เนื่องจากไม่ทราบส่วนประกอบแน่นอน (undefined medium) ในระยะที่นำมาใช้

ข. สารอินทรีย์ที่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ เช่น กรดอะมิโน ช่วยส่งเสริม การเจริญเติบโตและทำให้เซลล์มีการเปลี่ยนแปลงพร้อมที่จะเกิดเป็นต้นได้ เช่น แคซีนไฮโดรไลเซท (casein hydrolysate) 0.1-1.0 มก/ล. ทริพโทน (tryptone) 0.25-2.00 มก/ล. และสารสกัดจากมอลท์ (malt extrat) 0.5-10 มก/ล. สารเหล่านี้ประกอบด้วยวิตามินและกรดอะมิโน ส่วนสารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) ซึ่งมีวิตามินบีสูงมักใช้ในปริมาณ 0.25-2.00 มก/ล.

8.ผงถ่าน (activated charcoal)

มักใช้ในความเข้มข้น 0.2-3.0 % ในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อ ผงถ่านมี ความสามารถในการดูดซับสารบางตัวออกจากอาหารได้ เนื่องจากผงถ่านมีช่องว่างที่ ละเอียดมาก มีพื้นที่ผิวในช่องว่างสูง จึงใช้ผงถ่านในการดูดซับสารพิษ เช่น สารประกอบฟีนอล (phenol) เอทิลีน ทำให้ปริมาณสารดังกล่าวในอาหารลดลง เช่น การดูดซับฮอร์โมนหรือ สารประกอบฟีนอล ซึ่งเป็นพิษกับเซลล์ นอกจากนี้อาจใช้ผงถ่านในระยะที่เกิดรากเพื่อลดแสงบริเวณรากและทำให้รากเจริญเติบโตได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผงถ่านจึงสำคัญต่อการสร้างเป็นต้นใหม่ สารที่มีคุณสมบัติเหมือนกันกับผงถ่าน คือ PVP (polyvinyl pyrolidone) ก็สามารถดูดซับสารฟีนอลได้ หรือการเติม diethyl-dithiocarbonate (DIECA) จะช่วยป้องกันการเกิดออกซิเดชั่น

2.3.3 ฮอร์โมนพืชและสารควบคุมการเจริญเติบโต (Hormones and growth regulators)

สารควบคุมการเจริญเติบโตหรือที่เรียกกันทั่วไปว่า ฮอร์โมน จัดเป็นกลุ่มของสารที่กำลังได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบันนี้ เนื่องจากสามารถใช้ประโยชน์ได้กว้างขวางและเห็นผลได้ค่อนข้างเด่นชัด โดยมากใช้ในการติดผล เร่ง หรือชะลอการแก่ การสุกซึ่งลักษณะต่าง ๆ เหล่านี้ถูกควบคุมโดยสารแต่ละชนิดแตกต่างกันไป ดังนั้นถ้ามีการเลือกใช้ได้อย่างถูกต้องก็จะทำให้เราสามารถควบคุมการเจริญเติบโตของพืชได้ตามต้องการ เมื่อกล่าวถึงฮอร์โมนพืช (plant hormones) มีความหมายในเชิงวิชาการว่าเป็นสารอินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้นเองในปริมาณน้อยมาก แต่มีผลในด้านการส่งเสริมหรือยับยั้งการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาภายในต้นพืชนั้นๆ ทั้งนี้ไม่รวมพวกน้ำตาลหรือสารอาหารที่เป็นอาหารพืชโดยตรงจะเห็นได้ว่าพืชสร้างฮอร์โมนขึ้นน้อยมาก โดยมีปริมาณเพียงพอที่จะควบคุมการเติบโตภายในต้นพืชนั้นๆ ดังนั้นการสกัดฮอร์โมนออกมาจากต้นพืช เพื่อไปพ่นให้ต้นไม้อื่นๆ จึงเป็นเรื่องยากและไม่คุ้มค่า จึงได้มีการค้นคว้าและสังเคราะห์สารต่างๆ ซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนธรรมชาติขึ้นมาใช้ประโยชน์แทน เมื่อเป็นเช่นนี้ สารที่เรานำมาฉีดพ่นให้ต้นพืชเพื่อให้เกิดลักษณะตามที่เราต้องการนั้น จึงไม่ใช่ฮอร์โมนพืช แต่จัดเป็นสารสังเคราะห์ ซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมน จึงได้มีการบัญญัติศัพท์ทางวิชาการขึ้นมา ว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulators) ซึ่งมีความหมายถึงฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์ มีคุณสมบัติในการกระตุ้นยับยั้งหรือเปลี่ยนแปลงกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืชได้

การเติบโตของพืชในทุกขั้นตอนล้วนแล้วแต่ถูกควบคุมโดยฮอร์โมนทั้งสิ้นไม่ว่าจะเป็นการงอกของเมล็ดจนกระทั่งต้นตาย ดังนั้นการใช้สารสังเคราะห์ ซึ่งมีคุณสมบัติคล้ายฮอร์โมนฉีดพ่นให้กับต้นพืชจึงเป็นการเปลี่ยนระดับความสมดุลของฮอร์โมนภายใน ทำให้ต้นพืชแสดงลักษณะต่าง ๆ ออกมานอกเหนือการควบคุมของธรรมชาติแต่ก่อนที่จะใช้สารสังเคราะห์เหล่านี้ให้ได้ผลควรที่จะต้องศึกษาคุณสมบัติฮอร์โมนและสารสังเคราะห์ชนิดต่าง ๆ โดยละเอียด เสียก่อนฮอร์โมนที่สร้างขึ้นในต้นพืช (plant hormones) ทำหน้าที่กระตุ้นและมีส่วนร่วม ในกระบวนการต่าง ๆ ที่นำไปสู่การพัฒนาของต้นที่เป็นปกติการเจริญเติบโตตลอดจน การเปลี่ยนแปลงพัฒนาของเซลล์ เนื้อเยื่อ และ secondary metabolism เป็นผลมาจากฮอร์โมนเหล่านี้ทั้งสิ้น การเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตลงในอาหารจึงอาจไม่จำเป็นเสมอไป โดยเฉพาะในการเลี้ยงแคลลัส อย่างไรก็ตามโดยปกติจะมีส่วนช่วยในการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตและ/หรือการกำเนิดอวัยวะ และมีเนื้อเยื่อพืชไม่กี่ชนิดที่สร้างแคลลัสได้ในอาหารที่ปราศจาก สารควบคุมการเจริญเติบโต

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ออกซินและไซโทไคนินมีความสำคัญที่สุด พืชบางชนิดสร้างสารเหล่านี้อยู่แล้ว แต่ควรเพิ่มเข้าไปในอาหารเพื่อช่วยให้การเจริญดีขึ้น บางครั้งอาจต้องใช้จิบเบอเรลลิน หรือ เอทิลีน การเก็บฮอร์โมนพืชมักเก็บในตู้เย็นในรูปสารละลายเข้มข้น การนำฮอร์โมนพืชไปใช้อาจมีปัญหาการทำละลายของฮอร์โมนพืชในน้ำ การละลายออกซินควรทำในด่าง เช่น 0.1 KOH ไซโทไคนินก็เช่นเดียวกัน แต่จิบเบอเรลลินละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ ออก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซินและไซโทไคนินที่เตรียมเป็นสารละลายเข้มข้นควรเก็บไว้ในที่มืด หรือใส่ขวดสีชาเพราะจะเสื่อมสภาพเมื่อได้รับแสง สารควบคุมการเจริญเติบโตแต่ละชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกันไป ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยได้ 7 กลุ่มด้วยกัน คือ

1. ออกซิน (auxin) เช่น IAA (indole acetic acid) IBA (indole butyric acid) NAA (naphthalene acetic acid) 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid) ใช้ในช่วง 0.01-10 มก/ล. ออกซินช่วยเพิ่มขนาดของเซลล์ มักใช้ร่วมกับไซโทไคนินเพื่อช่วยใน การแบ่งเซลล์ การสร้างราก แต่การเจริญของรากจะถูกยับยั้งถ้ามีออกซินในปริมาณที่สูง

2. ไซโทไคนิน (cytokinin) ไซโทไคนินที่สังเคราะห์ได้ในธรรมชาติ คือ ซีอะทิน (zeatin) ใช้ในการกระตุ้นการเจริญเติบโต ไซโทไคนินที่ใช้กันมากคือ ไคเนทิน (kinetin) 2iP (N6-isopentenyl adenine) BAP (benzyl aminopurine) มีหน้าที่ส่งเสริมการแบ่งเซลล์ โดยเฉพาะถ้าใช้ร่วมกับออกซิน ถ้าใช้ในความเข้มข้นสูงขึ้นจะช่วยในสร้างราก แต่ยับยั้งการเจริญของรากส่งเสริมการสร้างยอดโดยลดผลจากการที่ตายอดข่มตาข้าง มีบทบาทในการเปลี่ยน สภาพเซลล์เป็นอวัยวะได้และชักนำให้เกิดเป็นต้น ไซโทไคนินทนความร้อนได้ดีจึงมักเติมในอาหารก่อนฆ่าเชื้อ บทบาทของออกซินและไซโทไคนินในพืชทั้งต้นและในสภาพหลอดแก้วอาจจะเหมือนกันหรือไม่เหมือนกันก็ได้

3. จิบเบอเรลลิน (gibberellin) ฮอร์โมนพืชกลุ่มนี้มี 60 กว่าชนิด แต่ GA3 เป็นชนิดที่ใช้มากที่สุด จิบเบอเรลลินไม่ค่อยใช้กันมากนักในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มีบทบาทในการชักนำให้ปล้องยาวขึ้นหลังจากการสร้างยอด ช่วยให้เนื้อเยื่อเจริญมีการเจริญเติบโตและช่วยในการงอกของเมล็ด ไม่ควรฆ่าเชื้อจิบเบอเรลลินด้วยหม้อนึ่งความดัน เพราะจิบเบอเรลลิน ส่วนหนึ่งจะเสื่อมสลายไปเมื่อได้รับความร้อน ควรทำให้ปลอดเชื้อโดยใช้เครื่องกรองเมมเบรน นอกจากนี้จิบเบอเรลลินนั้นเคยถูกนำมาใช้ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแต่โดยทั่ว ๆ ไป มีผลปิดกั้น การเกิดอวัยวะ

4. แอบซาซิกแอซิค (ABA; abscisic acid) มักยับยั้งการเจริญเติบโต ในสภาพปลอดเชื้อแต่ในบางครั้งพบว่า เอบีเอส่งเสริมการเจริญของแคลลัสและการเกิดเป็นต้นใหม่ ควรทำให้สารนี้ปลอดเชื้อโดยใช้เครื่องกรองเมมเบรน เอบีเอมีบทบาทเกี่ยวกับ การสังเคราะห์ไซโทไคนินและเป็นตัวต่อต้านการทำงานของ จิบเบอเรลลิน

5. เอทิลีน (ethylene) อวัยวะพืช แคลลัส หรือเซลล์ในสภาพหลอดแก้วมีการผลิตเอทิลีน จึงไม่ควรปิดหลอดแก้วแน่นเกินไปเพื่อไม่ให้เกิดการสะสมของแก๊สนี้ ผลของเอทิลีนมีทั้งส่งเสริมและยับยั้งการเจริญเติบโต การเลี้ยงเนื้อเยื่อในที่มีแสง จะมีการสะสมเอทิลีนมากกว่า ในที่มืด ถ้ามีมาก เกินไปจะทำให้เกิดการฉ่ำน้ำของพืชได้ แก๊สนี้ยังเป็นสาเหตุของการแก่ของเนื้อเยื่อพืช

6. สารชะลอการเจริญเติบโตของพืช (plant growth retardants) สารกลุ่มนี้ไม่จัดเป็นฮอร์โมน พืช แต่เป็นสารสังเคราะห์ทั้งหมด มีคุณสมบัติสำคัญ คือยับยั้งการสร้างหรือยับยั้งการทำงานของฮอร์โมนจิบเบอเรลลินในพืช จึงมีผลลดการยืดตัวของเซลล์ทำให้ปล้องสั้น ใบหนาเขียวเข้ม กระตุ้นการออกดอกของพืชบางชนิดและมีคุณสมบัติอื่นๆ ได้แก่ ทำให้พืชทนทานต่อ สภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ร้อนจัด เย็นจัด ดินแห้ง ดินเกลือ เพิ่มผลผลิตพืชบางชนิด เพิ่มการติดผลของพืชบางชนิด สารชะลอการเจริญเติบโตที่สำคัญได้แก่ แอนซิมิดอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ancymidol) คลอมีควอน (chlormequat) แดมิโนไซด์ (daminozide) พาโคลบิวทราโซล (paclobutrazol)

7. สารยับยั้งการเจริญเติบโต (plant growth inhibitors) สารกลุ่มนี้มีหน้าที่ในการถ่วงดุลกับสารเร่งการเติบโตพวกออกซิน จิบเบอเรลลินและไซโตไคนิน เพื่อให้การเติบโตเป็นไปอย่างพอเหมาะพอดี ส่วนใหญ่มีหน้าที่ยับยั้งการแบ่งเซลล์และการเติบโตของเซลล์ ทำให้เกิดการพักตัว (dormancy) และเกี่ยวข้องกับการหลุดร่วงของอวัยวะพืชฮอร์โมนในกลุ่มนี้มีพบในพืชมีกว่า 200 ชนิด แต่ที่สำคัญที่สุดและรู้จักกันดีคือ เอบีเอ (ABA) (abscisic acid) ในทางการเกษตรมีการใช้ประโยชน์จากสารกลุ่มนี้น้อยมาก อย่างไรก็ตามมีการใช้สารสังเคราะห์เพื่อประโยชน์บางอย่างเช่นยับยั้งการงอกของหัวมันฝรั่งและหอมหัวใหญ่ระหว่างการเก็บรักษา ใช้แทนการเด็ดยอด (pinching) เพื่อกระตุ้นให้แตกตาข้าง รวมทั้งยับยั้งการเติบโตทางกิ่งใบ ซึ่งมีผลในการกระตุ้นดอกได้ในพืชบางชนิด สารสังเคราะห์ที่สำคัญได้แก่ คลอดฟลูรีนอล (Chlorflurenol) ไดกูแลกโซเดียม (dikegulac sodium) มาเลอิกไฮดราไซด์ (maleic hydrazide) ทีไอบีเอ (TIBA)

สารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นสารเคมีการเกษตรชนิดหนึ่งซึ่งจัดว่าเป็นสารที่มีพิษเช่นกัน ดังนั้นการใช้สารเหล่านี้จึงต้องให้ความระมัดระวังเช่นเดียวกับการใช้ยาฆ่าแมลง เช่น ห้ามใช้มือคนสาร หลีกเลี่ยงการสัมผัสสารเข้มข้นโดยตรง สวมชุดที่สามารถป้องกันการฟุ้งกระจายของสาร และอื่นๆ ตามหลักเกณฑ์เพื่อความปลอดภัยในการใช้สารพิษ โดยทั่วไปแล้ว สารเหล่านี้มักสลายตัวได้ง่าย ซึ่งจะทำให้เสื่อมประสิทธิภาพได้เร็ว จึงควรเก็บรักษาไว้ในที่เย็นและไม่ถูกแสง ควรผสมสารให้เพียงพอต่อการใช้ในแต่ละครั้งเท่านั้นและเพื่อความมั่นใจในประสิทธิภาพของสารจึงไม่ควรใช้สารที่เก็บรักษาไว้นานเกิน 2 ปี

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Andrade และคณะ (1999) ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีผลต่อการเกิดยอดและรากของลาเวนเดอร์ ทำการทดลองโดยใช้ชิ้นส่วนต่างๆจากต้นพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าอาหารแข็ง MS (Murashige และ Skoog, 1962) ที่ความเข้มข้นของธาตุอาหาร 1/4 เท่า มีอัตราการเกิดรากและการเจริญของรากสูงกว่าอาหารแข็ง MS (Murashige และ Skoog, 1962)ปกติ แต่ในอาหารแข็ง MS (Murashige และ Skoog, 1962) ปกติ จะมีอัตราการเจริญของยอดดีกว่าอาหารแข็ง MS (Murashige และ Skoog, 1962) ที่มีการลดความเข้มข้นของธาตุอาหาร โดยเฉพาะในอาหารแข็ง 1/4MS (Murashige และ Skoog, 1962) ที่มีการเติม NAA พบว่ามีการเกิดรากได้ดีที่สุด

Tsuro และคณะ (2000) ได้ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ *Lavandula vera* จากแคคลัสที่ได้จากชิ้นส่วนใบให้พัฒนาเป็นยอดและราก โดยนำแคคลัสมาเพาะเลี้ยงในอาหาร MS (Murashige และ Skoog, 1962) ที่มี Fochlorfenuron (N-(2-chloro-4-pyridyl)-N0-phenylurea (CPPU)) และมีการชักนำให้เกิดรากในอาหาร 1/2 MS โดยมีการใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต (IAA) หรือ (NAA) หรือ (IBA) และพบว่ามีการเกิดรากที่ 74.0% ในอาหาร 1/2 MS (Murashige และ Skoog, 1962) ที่มี IAA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sandra และAnabela (2012) ได้ทำการศึกษาการชักนำรากของลาเวนเดอร์โดยค้นพบว่าการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA นั้นประสบความสำเร็จในการชักนำให้เกิดราก โดยในหลายการศึกษาการเพาะเลี้ยงลาเวนเดอร์การเกิดรากนั้นมักพบในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้นของสารอาหารหลักต่ำ เช่น การลดความเข้มข้นของ MS เป็น 1/2 MS หรือ 1/4 MS

Suthar และคณะ (2011) ได้ทำการศึกษาผลกระทบที่เกิดขึ้นในการเพาะเลี้ยงต้นกำยานในหลอดทดลองจากการแปรผันความเข้มข้นของวุ้นซึ่งจากผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของวุ้นระหว่าง 0.6 กับ 0.4 โดยพบว่าที่ความเข้มข้นของวุ้น 0.4 เกิดรากมากกว่าความเข้มข้นของวุ้น 0.6 จากผลการทดลองพบว่าการใช้วุ้นที่ความเข้มข้นต่ำหรือไม่ใช่เลยสามารถชักนำรากและยอดได้เพิ่มมากขึ้น

Frett และSmagula (1983) ได้ทำการศึกษาปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดรากเพิ่มขึ้นคือลักษณะการวางชิ้นส่วนของพืช ซึ่งผลการทดลองการเพาะเลี้ยงโดยการวางชิ้นส่วนพืชแนวหัวกลับให้ผลการเกิดรากที่ดี เนื่องจากคาดว่ารากได้รับออกซิเจนที่ง่ายขึ้น บางครั้งการวางชิ้นส่วนพืชในแนวนอนบนอาหารให้ผลการเกิดยอดดีที่สุด เนื่องจากการวางแนวนอนส่งเสริมการเกิดยอดด้านข้าง

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 ตัวอย่างที่นำมาใช้ในการศึกษา

ลาเวนเดอร์ สายพันธุ์ *Lavandula dentata* ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี และห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาขาวิชาชีววิทยา สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.1.2 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

3.1.2.1 องค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยง

1. อาหารสูตร MS (Murashige และ skoog, 1992) สำเร็จรูปชนิดผง
2. ผงวุ้น (Agar Powder)
3. น้ำตาลซูโครส (Sucrose)

3.1.2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโต

1. Naphthylacetic acid (NAA)
2. Indole butyric acid (IBA)

3.1.3 อุปกรณ์

3.1.3.1 อุปกรณ์และวัสดุที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

1. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave)
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียดและแบบหยาบ
3. เครื่องวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter)
4. ไมโครเวฟ (Microwave)
5. เครื่องอบลมร้อน (Hot air oven)
6. ช้อนตักสารเคมี
7. บีกเกอร์ขนาดต่างๆ
8. แท่งแก้วหรือช้อนคนสารเคมี
9. กระบอกตวง
10. ถ้วยตวงสารเคมี
11. ออโต้ปิเปตต์ (Auto pipette)
12. ขวดเพาะเลี้ยง
13. สำลี

3.1.3.2 อุปกรณ์และวัสดุสำหรับการตัดถ่ายเนื้อเยื่อในตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (Laminar air- flow)

1. ตะเกียงแอลกอฮอล์
2. ตะแกรงใส่หลอดทดลอง
3. เครื่องแก้ว: จานเพาะเลี้ยง, ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. เครื่องมือผ่าตัด: มีดผ่าตัด, ปากคีบ
5. กระดาษทิชชู่ปลอดเชื้อ
6. แอลกอฮอล์ 70%

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การเตรียมอาหารแข็ง MS (Murashige และ Skoog, 1962)

การเตรียมอาหารแข็งสูตร MS (Murashige และ Skoog, 1962) 1 ลิตร ทำได้โดย ชั่งอาหารสำเร็จรูปสูตร MS (Murashige และ Skoog, 1962) 4.43 กรัม และน้ำตาล 30 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร แล้วทำการปรับ pH ด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) และสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCL) ให้ค่า pH อยู่ในช่วง 5.6–5.8 เติมผงวุ้น 8 กรัม จากนั้นทำการละลายวุ้นโดยการให้ความร้อนเพื่อให้ผงวุ้นละลายเป็นเนื้อเดียวกับอาหาร MS (Murashige และ Skoog, 1962) เทอาหารลงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแล้วปิดฝาให้สนิท ก่อนนำขวดอาหารไปทำการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3.2.2 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดราก

3.2.2.1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากโดยลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชแนวตั้ง

ศึกษาอาหารสูตรที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากโดยเตรียมอาหาร MS ที่ความเข้มข้น 1MS ,1/2MS ,1/4MS ร่วมกับการศึกษาการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ IBA ที่ความเข้มข้น 0.3 ,0.6 ,1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังตารางที่ 3.1 และนำชิ้นส่วนของต้นลาเวนเดอร์มาเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ต้องการศึกษาโดยมีลักษณะการวางแนวตั้ง ทำการทดลองจำนวน 10 ซ้ำ การเพาะเลี้ยงภายใต้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

วิธีการเตรียมอาหาร 1/2 MS สามารถเตรียมได้เหมือนวิธีเตรียมอาหารแข็ง MS ปกติ แต่มีการลดความเข้มข้นของธาตุอาหาร MS ลงครึ่งเท่าจากปกติ โดยอาหาร MS ปกติ จะมีการชั่งอาหารสำเร็จรูป MS หนัก 4.43 กรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ดังนั้น สูตรอาหาร 1/2 MS สามารถเตรียมได้โดย ชั่งอาหารสำเร็จรูป MS 2.215 กรัมต่อน้ำกลั่น 1ลิตร

วิธีการเตรียมอาหาร 1/4 MS สามารถเตรียมได้เหมือนวิธีเตรียมอาหารแข็ง MS ปกติ แต่มีการลดความเข้มข้นของธาตุอาหาร MS ลงสี่เท่าจากปกติ โดยอาหาร MS ปกติ จะมีการชั่งอาหารสำเร็จรูป MS หนัก 4.43 กรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ดังนั้น สูตรอาหาร 1/4 MS สามารถเตรียมได้โดย ชั่งอาหารสำเร็จรูป MS 1.1075 กรัมต่อน้ำกลั่น 1ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2.2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากโดยลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชแนวนอน

ศึกษาอาหารสูตรที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากโดยเตรียมอาหาร MS ที่ความเข้มข้น 1MS ,1/2MS ,1/4MS ร่วมกับการศึกษาการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ IBA ที่ความเข้มข้น 0.3 ,0.6 ,1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังตารางที่ 3.1 และนำชิ้นส่วนของต้นลาเวนเดอร์มาเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ต้องการศึกษาโดยมีลักษณะการวางแนวนอน ทำการทดลองจำนวน 10 ซ้ำ การเพาะเลี้ยงภายใต้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

3.2.2.3 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากโดยลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชแนวหัวกลับ

ศึกษาอาหารสูตรที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากโดยเตรียมอาหาร MS ที่ความเข้มข้น 1MS ,1/2MS ,1/4MS ร่วมกับการศึกษาการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ IBA ที่ความเข้มข้น 0.3 ,0.6 ,1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังตารางที่ 3.1 และนำชิ้นส่วนของต้นลาเวนเดอร์มาเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ต้องการศึกษาโดยมีลักษณะการวางแนวหัวกลับ ทำการทดลองจำนวน 10 ซ้ำ การเพาะเลี้ยงภายใต้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์

3.2.2.4 การศึกษาความเข้มข้นของวุ้นที่ส่งผลต่อการชักนำให้เกิดราก

คัดเลือกสูตรอาหารจากสูตรอาหารทั้ง 18 สูตร และลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชที่ส่งผลต่อการชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุดมาทำการศึกษาความเข้มข้นของวุ้นต่อไป โดยจะศึกษาความเข้มข้นของวุ้นที่ 0, 0.4, 0.8 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 10 ซ้ำ ทำการเพาะเลี้ยงภายใต้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 วัน

วิธีการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชที่มีการลดความเข้มข้นของวุ้นที่ 0 เปอร์เซ็นต์ สามารถเตรียมได้เหมือนอาหารเพาะเลี้ยงสูตรปกติ แต่ไม่มีการใส่วุ้นลงไป โดยอาหาร MS ปกติ จะมีการชั่งผงวุ้นหนัก 8 กรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร หรือ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น อาหารเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชที่มีการลดความเข้มข้นของวุ้นเหลือ 0 เปอร์เซ็นต์ จึงไม่มีการใส่วุ้นลงไป

โดยลักษณะของสูตรอาหารเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชที่ไม่มีการใส่วุ้นลงไป จะมีลักษณะเป็นอาหารเหลว ดังนั้นจึงมีการนำสำลีตัดเป็นแผ่นบางๆใส่ลงไปในอาหารภายในขวดเพาะเลี้ยงก่อนที่จะนำไปเข้าหม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำ เนื่องจากสำลีจะช่วยให้สามารถปักชิ้นส่วนพืชลงในอาหารเพาะเลี้ยงได้

วิธีการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชที่มีการลดความเข้มข้นของวุ้นที่ 0.4 เปอร์เซ็นต์ สามารถเตรียมได้เหมือนอาหารแข็งปกติ แต่ลดความเข้มข้นของวุ้นลงครึ่งเท่าจากอาหารแข็งสูตรปกติ โดยอาหารแข็งสูตรปกติ จะมีการชั่งผงวุ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หนัก 8 กรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร หรือ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น อาหารแข็งที่มีการลดความเข้มข้นของวุ้นเหลือ 0.4 เปอร์เซ็นต์ จึงสามารถเตรียมได้โดย ชั่งผงวุ้น 4 กรัมต่อน้ำกลั่น 1ลิตร

ตาราง 3.1 สูตรอาหาร MS ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกันซึ่งประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตระหว่าง NAA และ IBA ที่ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน

สูตรอาหาร	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต(มิลลิกรัม/ลิตร)	
	NAA	IBA
1 MS	0.3	-
	0.6	-
	1.5	-
	-	0.3
	-	0.6
	-	1.5
1/2 MS	0.3	-
	0.6	-
	1.5	-
	-	0.3
	-	0.6
	-	1.5
1/4 MS	0.3	-
	0.6	-
	1.5	-
	-	0.3
	-	0.6
	-	1.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากโดยลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชแนวตั้ง

จากการทดลองศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำรากของต้นลาเวนเดอร์ โดยนำชิ้นส่วนของต้นลาเวนเดอร์มาเพาะเลี้ยงในแนวตั้งในอาหาร MS ความเข้มข้น 1MS, 1/2 MS และ1/4 MS โดยทำการเปรียบเทียบอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ IBA ที่ความเข้มข้น 0.3, 0.6 และ1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทดลองจำนวน 10 ซ้ำ ทำการเพาะเลี้ยงภายใต้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อครบ 7 วัน จะทำการสังเกตและนับจำนวนต้นลาเวนเดอร์ที่เกิดราก และ 30 วัน จะเก็บผลจำนวนต้นที่เกิดรากและสังเกตลักษณะของลำต้น ดังที่แสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 เปอร์เซ็นต์การเกิดรากและลักษณะของรากในสูตรอาหาร MS ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันและสารควบคุมการเจริญเติบโตระหว่าง NAA และ IBA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลานาน 30 วัน

สูตรอาหาร	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต(มิลลิกรัม/ลิตร)		เปอร์เซ็นต์	ลักษณะของราก
	NAA	IBA	การเกิดราก	
1 MS	0.3	-	80	ยาว หนา มีจำนวนมาก
	0.6	-	20	ยาว หนา มีจำนวนมาก
	1.5	-	20	สั้น บาง มีจำนวนน้อย
	-	0.3	80	ยาว บาง มีจำนวนน้อย
	-	0.6	40	ยาว บาง มีจำนวนน้อย
	-	1.5	20	ยาว บาง มีจำนวนน้อย
1/2 MS	0.3	-	80	ยาว หนา มีจำนวนน้อย
	0.6	-	60	ยาว หนา มีจำนวนน้อย
	1.5	-	40	สั้น บาง มีจำนวนน้อย
	-	0.3	80	ยาว บาง มีจำนวนน้อย
	-	0.6	40	ยาว บาง มีจำนวนน้อยมาก
	-	1.5	60	สั้น หนา มีจำนวนน้อยมาก
1/4 MS	0.3	-	60	ยาว หนา มีจำนวนปานกลาง
	0.6	-	40	ยาว หนา มีจำนวนน้อย
	1.5	-	100	ยาว หนา มีจำนวนมาก
	-	0.3	40	สั้น หนา มีจำนวนน้อยมาก
	-	0.6	60	ยาว บาง มีจำนวนน้อยมาก
	-	1.5	60	สั้น หนา มีจำนวนน้อยมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองของอาหารสูตร MS จากการทดลองพบว่าผลของการชักนำให้เกิดรากโดยมีลักษณะการวางแนวตั้งบนอาหารสูตร MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ IBA เริ่มเห็นรากชัดเจนเมื่อครบ 7 วัน และเก็บผลการทดลองอีกครั้งในวันที่ 30 ของการเพาะเลี้ยง พบว่าอาหารสูตร MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA สูตรที่ดีที่สุดคือ ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 80 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะของรากยาวและหนา มีจำนวนมาก ลักษณะลำต้นสูง มีใบสีเขียว และอาหารสูตร MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA สูตรที่ดีที่สุดคือ ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 80 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะของรากยาวและบาง มีจำนวนน้อย ลักษณะลำต้นไม่ค่อยสูง มีใบสีเขียว ดังแสดงในรูปที่ 4.1

เมื่อนำอาหารสูตรที่ดีที่สุดของ NAA และ IBA มาเทียบกันจะเห็นได้ว่า อาหารสูตร MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเท่ากับอาหารสูตรที่ดีที่สุดของ IBA แต่มีลักษณะของรากที่หนาและจำนวนมากกว่าอย่างเห็นได้ชัด

รูปที่ 4.1 ลักษณะของรากและต้นลาเวนเดอร์ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน โดยมีลักษณะการวางชิ้นส่วนแนวตั้ง เพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 30 วัน : (ก) ลักษณะรากที่เกิดในอาหารสูตร MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) ลักษณะรากที่เกิดในอาหารสูตร MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) ลักษณะต้นที่เกิดในอาหารสูตร MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ลักษณะต้นที่เกิดในอาหารสูตร MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองของอาหารสูตร 1/2 MS จากการทดลองพบว่าผลของการชักนำให้เกิดรากบนอาหารสูตร 1/2MS โดยมีลักษณะการวางแนวตั้งที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ IBA เริ่มเห็นรากชัดเจนเมื่อครบ 7 วัน และเก็บผลการทดลองอีกครั้งในวันที่ 30 ของการเพาะเลี้ยงพบว่า อาหารสูตร 1/2 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA สูตรที่ดีที่สุดคือ ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 80 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะของรากยาวและหนา มีจำนวนน้อย ลักษณะลำต้นไม่ค่อยสูง มีใบสีเขียวอ่อน และอาหารสูตร 1/2MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA สูตรที่ดีที่สุดคือ ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 80 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะของรากยาวและบาง มีจำนวนน้อย ลักษณะลำต้นเตี้ย มีใบสีเขียวอ่อน ดังแสดงในรูปที่ 4.2

เมื่อนำอาหารสูตรที่ดีที่สุดของ NAA และ IBA มาเปรียบเทียบกันจะเห็นได้ว่า อาหารสูตร 1/2 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเท่ากับอาหาสูตรที่ดีที่สุดของ IBA แต่มีลักษณะของรากที่หนาและยาวกว่า

รูปที่ 4.2 ลักษณะของรากและต้นลาเวนเดอร์ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 1/2 MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน โดยมีลักษณะการวางชิ้นส่วนแนวตั้ง เพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 30 วัน : (ก) ลักษณะรากที่เกิดในอาหารสูตร 1/2 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) ลักษณะรากที่เกิดในอาหารสูตร 1/2 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) ลักษณะต้นที่เกิดในอาหารสูตร 1/2 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ลักษณะต้นที่เกิดในอาหารสูตร 1/2 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองของอาหารสูตร 1/4 MS จากการทดลองพบว่าผลของการชักนำให้เกิดรากบนอาหารสูตร 1/4MS โดยมีลักษณะการวางแนวตั้งที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ IBA เริ่มเห็นรากชัดเจนเมื่อครบ 7 วัน และเก็บผลการทดลองอีกครั้งในวันที่ 30 ของการเพาะเลี้ยงพบว่า อาหารสูตร 1/4 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA สูตรที่ดีที่สุดคือที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะของรากยาวและหนา มีจำนวนมาก ลักษณะลำต้นเตี้ยแคระ มีใบสีเขียวอ่อน และอาหารสูตร 1/4MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA สูตรที่ดีที่สุดคือ ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร และที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากที่ 60 เปอร์เซ็นต์เท่ากัน แต่ลักษณะของรากที่เกิดจาก อาหารสูตร 1/4MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีรากที่ยาวกว่า

เมื่อนำอาหารสูตรที่ดีที่สุดของ NAA และ IBA มาเทียบกันจะเห็นได้ว่า อาหารสูตร 1/4 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากที่สูงกว่าอาหารสูตรที่ดีที่สุดของ IBA และมีลักษณะของรากที่หนาและจำนวนมาก ดังแสดงในรูปที่ 4.3

รูปที่ 4.3 ลักษณะของรากและต้นลาเวนเดอร์ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 1/4 MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน โดยมีลักษณะการวางชิ้นส่วนแนวตั้ง เพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 30 วัน : (ก) ลักษณะรากที่เกิดในอาหารสูตร 1/4 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) ลักษณะรากที่เกิดในอาหารสูตร 1/4MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) ลักษณะต้นที่เกิดในอาหารสูตร 1/4MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ลักษณะต้นที่เกิดในอาหารสูตร 1/4MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำสูตรอาหารที่ดีที่สุดของ สูตรอาหาร MS ในแต่ละความเข้มข้น มาทำการเปรียบเทียบเพื่อหาสูตรอาหารที่ดีที่สุดในการชักนำให้เกิดรากโดยมีลักษณะการวางแนวตั้ง พบว่าอาหารแข็ง MS สูตรที่ดีที่สุดคือ อาหารสูตร 1/4 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากที่สูงที่สุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากโดยลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชแนวนอน

จากการทดลองศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำรากของต้นลาเวนเดอร์ โดยนำชิ้นส่วนของต้นลาเวนเดอร์มาเพาะเลี้ยงในแนวนอนในอาหาร MS ความเข้มข้น 1MS, 1/2 MS และ 1/4 MS โดยทำการเปรียบเทียบอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ IBA ที่ความเข้มข้น 0.3, 0.6 และ1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทดลองจำนวน 10 ซ้ำ ทำการเพาะเลี้ยงภายใต้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อครบ 7 วัน จะทำการสังเกตและนับจำนวนต้นลาเวนเดอร์ที่เกิดราก และ 30 วัน จะเก็บผลจำนวนต้นที่เกิดรากและสังเกตลักษณะของลำต้น ดังที่แสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 เปอร์เซ็นต์การเกิดรากและลักษณะของรากในสูตรอาหาร MS ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันและสารควบคุมการเจริญเติบโตระหว่าง NAA และ IBA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลานาน 30 วัน

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต(มิลลิกรัม/ลิตร)		เปอร์เซ็นต์การเกิดราก	ลักษณะของราก
	NAA	IBA		
1 MS	0.3	-	20	ยาว บาง มีจำนวนน้อยมาก
	0.6	-	90	สั้น หนา มีจำนวนปานกลาง
	1.5	-	80	ยาว หนา มีจำนวนมาก
	-	0.3	50	ยาว หนา มีจำนวนน้อยมาก
	-	0.6	50	ยาว บาง มีจำนวนปานกลาง
	-	1.5	60	ยาว บาง มีจำนวนปานกลาง
1/2 MS	0.3	-	70	ยาว หนา มีจำนวนน้อย
	0.6	-	100	ยาว หนา มีจำนวนมาก
	1.5	-	100	ยาว หนา มีจำนวนมาก
	-	0.3	50	สั้น หนา มีจำนวนปานกลาง
	-	0.6	90	ยาว บาง มีจำนวนปานกลาง
	-	1.5	70	ยาว บาง มีจำนวนน้อย
1/4 MS	0.3	-	100	ยาว หนา มีจำนวนปานกลาง
	0.6	-	100	ยาว หนา มีจำนวนปานกลาง
	1.5	-	100	สั้น หนา มีจำนวนปานกลาง
	-	0.3	70	ยาว หนา มีจำนวนน้อย
	-	0.6	70	ยาว บาง มีจำนวนปานกลาง
	-	1.5	50	ยาว หนา มีจำนวนปานกลาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองของอาหารสูตร MS จากการทดลองพบว่าผลของการชักนำให้เกิดรากบนอาหารแข็ง สูตร MS โดยมีลักษณะการวาแนวนอนที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ IBA เริ่มเห็นรากชัดเจนเมื่อครบ 5 วัน และเก็บผลการทดลองอีกครั้งในวันที่ 30 ของการเพาะเลี้ยงพบว่า อาหารสูตร MS ที่ดีที่สุดคืออาหาร MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 90 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะของรากสั้นและหนา มีจำนวนปานกลาง ลักษณะลำต้นไม่ค่อยสูง มีใบสีเขียว ดังแสดงในรูปที่ 4.4

เมื่อนำอาหารสูตรที่ดีที่สุดของ NAA และ IBA มาเทียบกันจะเห็นได้ว่าอาหารสูตร MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร มีลักษณะของรากที่หนาและจำนวนปานกลาง

รูปที่ 4.4 ลักษณะรากและลำต้นของต้นลาเวนเดอร์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีลักษณะการวางชิ้นส่วนแนวนอน เพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 30 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองของสูตรอาหาร 1/2 MS จากการทดลองพบว่าผลของการชักนำให้เกิดรากบนอาหารแข็ง สูตร 1/2 MS โดยมีลักษณะการวางแนวนอนที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ IBA เริ่มเห็นรากชัดเจนเมื่อครบ 5 วัน และเก็บผลการทดลองอีกครั้งในวันที่ 30 ของการเพาะเลี้ยงพบว่า อาหารสูตร 1/2 MS ที่ดีที่สุดคือ สูตรอาหาร 1/2 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะของรากยาวและหนา มีจำนวนมาก มีลักษณะลำต้นไม่ค่อยสูงและมีใบสีเขียว และสูตรอาหาร 1/2 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะของรากยาวและหนา มีจำนวนมาก มีลักษณะลำต้นสูงและมีใบสีเขียว ดังแสดงในรูปที่ 4.5

เมื่อนำอาหารสูตรที่ดีที่สุดคืออาหาร 1/2 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์เท่ากัน มีลักษณะของรากยาวและหนา มีจำนวนมากเหมือนกัน แต่ว่าอาหาร 1/2 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีลักษณะลำต้นสูง และมีใบสีเขียวมาก

รูปที่ 4.5 ลักษณะของรากและต้นลาเวนเดอร์ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 1/2 MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน โดยมีลักษณะการวางชิ้นส่วนแนวนอน เพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 30 วัน : (ก) ลักษณะรากที่เกิดในอาหารสูตร 1/2 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) ลักษณะรากที่เกิดในอาหารสูตร 1/2 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) ลักษณะต้นที่เกิดในอาหารสูตร 1/2 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ลักษณะต้นที่เกิดในอาหารสูตร 1/2 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

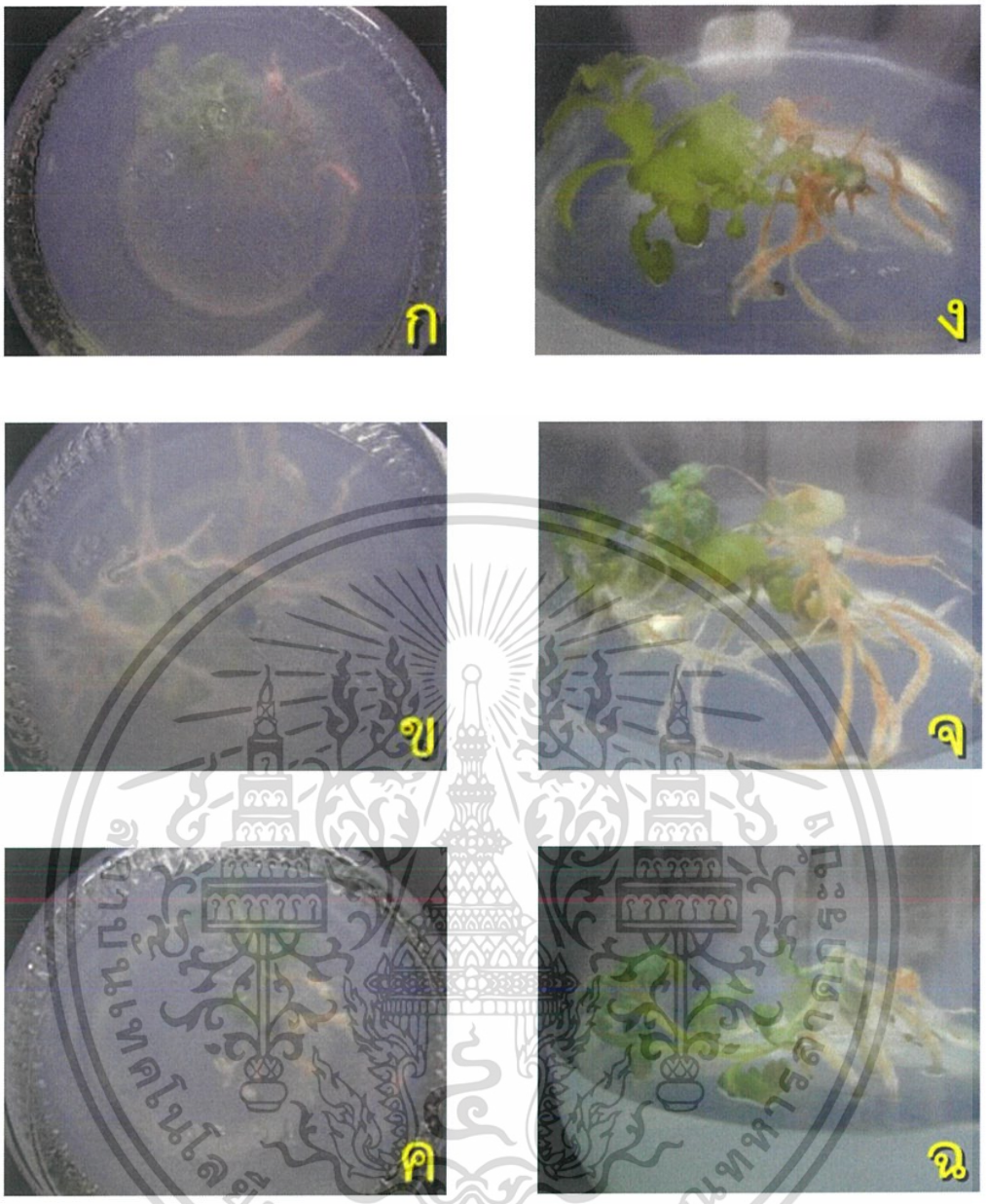
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองของสูตรอาหาร 1/4 MS จากการทดลองพบว่าผลของการชักนำให้เกิดรากบนอาหารแข็ง สูตร 1/4 MS โดยมีลักษณะการวางแนวนอนที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ IBA เริ่มเห็นรากชัดเจนเมื่อครบ 5 วัน และเก็บผลการทดลองอีกครั้งในวันที่ 30 ของการเพาะเลี้ยงพบว่า อาหารสูตร 1/4 MS ที่ดีที่สุดคือ สูตรอาหาร 1/4 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะของรากยาวและหนา มีจำนวนปานกลาง มีลักษณะลำต้นเตี้ยแคระ และมีใบสีเขียว และสูตรอาหาร 1/4 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะของรากยาวและหนา มีจำนวนปานกลาง มีลักษณะลำต้นไม่ค่อยสูง และมีใบสีเขียว และสูตรอาหาร 1/4 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะของรากสั้นและหนา มีจำนวนปานกลาง มีลักษณะลำต้นไม่ค่อยสูง และมีใบสีเขียว ดังแสดงในรูปที่ 4.6

เมื่อนำอาหารสูตรที่ดีที่สุดคืออาหาร 1/4 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์เท่ากัน แต่ว่าอาหาร 1/4 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร มีลักษณะลำต้นค่อนข้างสูง และมีใบสีเขียวมาก

เมื่อนำอาหารสูตรที่ดีที่สุดของ สูตรอาหารแข็ง MS ในแต่ละความเข้มข้นโดยมีลักษณะการวางแนวนอน มาทำการเปรียบเทียบกันเพื่อหาสูตรอาหารที่ดีที่สุดในการชักนำให้เกิดรากโดยมีลักษณะการวางแนวนอน พบว่าอาหารแข็ง MS สูตรที่ดีที่สุดคือ อาหารสูตร 1/4 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น NAA 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากที่สูงที่สุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะของรากที่ยาวและหนา มีลักษณะของลำต้นที่ค่อนข้างสูง และใบสีเขียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 ลักษณะของรากและต้นลาเวนเดอร์ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 1/4 MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน โดยมีลักษณะการวางชิ้นส่วนแนวนอน เพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 30 วัน : (ก) ลักษณะรากที่เกิดในอาหารสูตร 1/4 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) ลักษณะรากที่เกิดในอาหารสูตร 1/4MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) ลักษณะรากที่เกิดในอาหารสูตร 1/4MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ง) ลักษณะต้นที่เกิดในอาหารสูตร 1/4 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร (จ) ลักษณะต้นที่เกิดในอาหารสูตร 1/4MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร (ฉ) ลักษณะรากที่เกิดในอาหารสูตร 1/4MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากโดยลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชแนวหัวกลับ

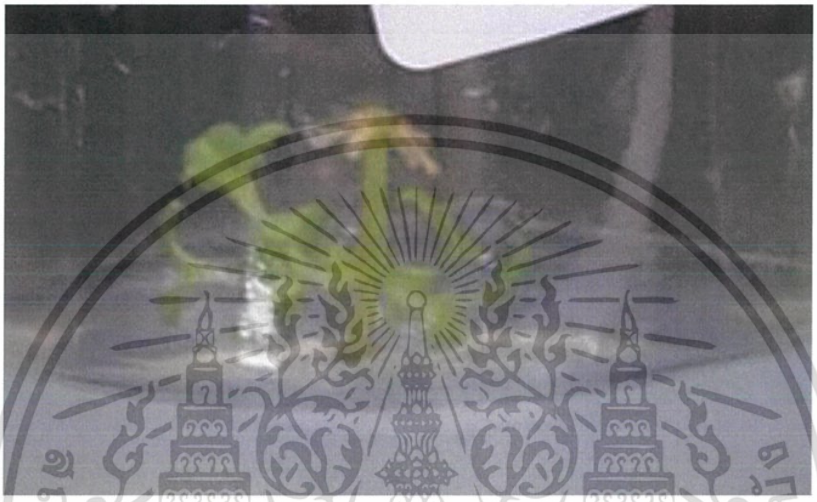
จากการทดลองศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำรากของต้นลาเวนเดอร์ โดยนำชิ้นส่วนของต้นลาเวนเดอร์มาเพาะเลี้ยงในแนวหัวกลับในอาหาร MS ความเข้มข้น 1MS, 1/2 MS และ1/4 MS โดยทำการเปรียบเทียบอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ IBA ที่ความเข้มข้น 0.3, 0.6 และ1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทดลองจำนวน 10 ซ้ำ ทำการเพาะเลี้ยงภายใต้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อครบ 7 วัน จะทำการสังเกตและนับจำนวนต้นลาเวนเดอร์ที่เกิดราก และ 30 วัน จะเก็บผลจำนวนต้นที่เกิดรากและสังเกตลักษณะของลำต้น ดังที่แสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์การเกิดรากและลักษณะของรากในสูตรอาหาร MS ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันและสารควบคุมการเจริญเติบโตระหว่าง NAA และ IBA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลานาน 14 วัน

สูตรอาหาร MS	ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต(มิลลิกรัม/ลิตร)		เปอร์เซ็นต์	ลักษณะของราก
	NAA	IBA		
1 MS	0.3	-	70	สั้น บาง มีจำนวนน้อย
	0.6	-	60	สั้น บาง มีจำนวนน้อย
	1.5	-	90	สั้น หนา มีจำนวนน้อย
	-	0.3	30	สั้น บาง มีจำนวนน้อยมาก
	-	0.6	40	ยาว บาง มีจำนวนน้อยมาก
	-	1.5	10	ยาว หนา มีจำนวนน้อยมาก
1/2 MS	0.3	-	90	ยาว หนา มีจำนวนปานกลาง
	0.6	-	90	ยาว บาง มีจำนวนมาก
	1.5	-	90	สั้น บาง มีจำนวนมาก
	-	0.3	10	สั้น บาง มีจำนวนน้อยมาก
	-	0.6	70	ยาว บาง มีจำนวนน้อย
	-	1.5	40	สั้น บาง มีจำนวนน้อยมาก
1/4 MS	0.3	-	100	ยาว บาง มีจำนวนปานกลาง
	0.6	-	100	ยาว หนา มีจำนวนมาก
	1.5	-	100	สั้น หนา มีจำนวนปานกลาง
	-	0.3	80	สั้น บาง มีจำนวนน้อย
	-	0.6	50	สั้น บาง มีจำนวนน้อยมาก
	-	1.5	80	สั้น บาง มีจำนวนน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองของสูตรอาหาร MS จากการทดลองพบว่าผลของการชักนำให้เกิดรากบนอาหารแข็ง สูตร MS โดยมีลักษณะการวางแนวหัวกลับที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ IBA เริ่มเห็นรากชัดเจนเมื่อครบ 4 วัน และเก็บผลการทดลองอีกครั้งในวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยงพบว่า อาหารสูตร MS ที่ดีที่สุดคืออาหาร MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 90 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะของรากสั้นและหนา มีจำนวนน้อย ลักษณะลำต้นเตี้ย มีใบสีเขียว ดังแสดงในรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 ต้นลาเวนเดอร์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีลักษณะการวางชิ้นส่วนแนวหัวกลับเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองของสูตรอาหาร 1/2 MS จากการทดลองพบว่าผลของการชักนำให้เกิดรากบนอาหารสูตร 1/2 MS โดยมีลักษณะการวางแนวหัวกลับที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ IBA เริ่มเห็นรากชัดเจนเมื่อครบ 4 วัน และเก็บผลการทดลองอีกครั้งในวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยงพบว่า อาหารสูตร 1/2 MS ที่ดีที่สุดคือ อาหารสูตร 1/2 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 90 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะของรากยาวและหนา มีจำนวนปานกลาง มีลักษณะลำต้นไม่ค่อยสูง และมีใบสีเขียวอ่อน อาหารสูตร 1/2 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 90 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะของรากยาวและบาง มีจำนวนมาก มีลักษณะลำต้นไม่ค่อยสูง และมีใบสีเขียวอ่อน และอาหารสูตร 1/2 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 90 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะของรากสั้นและบาง มีจำนวนมาก มีลักษณะลำต้นเตี้ยแคระและมีใบสีเขียวอ่อน ดังแสดงในรูปที่ 4.8

เมื่อนำอาหารสูตรที่ดีที่สุดคืออาหารสูตร 1/2 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 90 เปอร์เซ็นต์เท่ากัน แต่อาหาร 1/2 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร มีลักษณะของรากยาวและมีจำนวนมาก

รูปที่ 4.8 ลักษณะของรากและต้นลาเวนเดอร์ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 1/2 MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน โดยมีลักษณะการวางชิ้นส่วนแนวหัวกลับ เพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 14 วัน : (ก) ลักษณะรากและต้นที่เกิดในอาหารสูตร 1/2 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) ลักษณะรากและต้นที่เกิดในอาหารสูตร 1/2 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) ลักษณะรากและต้นที่เกิดในอาหารสูตร 1/2 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองของสูตรอาหาร 1/4 MS จากการทดลองพบว่าผลของการชักนำให้เกิดรากบนอาหารสูตร 1/4 MS โดยมีลักษณะการวางแนวหัวกลับที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ IBA เริ่มเห็นรากชัดเจนเมื่อครบ 4 วัน และเก็บผลการทดลองอีกครั้งในวันที่ 14 ของการเพาะเลี้ยงพบว่า อาหารสูตร 1/4 MS ที่ดีที่สุดคือ อาหารสูตร 1/4 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะของรากยาวและบาง มีจำนวนปานกลาง มีลักษณะลำต้นเตี้ยแคระ และมีใบสีเขียวแกมเหลือง และอาหารสูตร 1/4 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะของรากยาวและหนา มีจำนวนมาก มีลักษณะลำต้นไม่ค่อยสูง และมีใบสีเขียวอ่อน และอาหารสูตร 1/4 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะของรากไม่ค่อยยาวและหนา มีจำนวนปานกลาง มีลักษณะลำต้นเตี้ยแคระ และมีใบสีเขียวแกมเหลือง ดังแสดงในรูปที่ 4.9

เมื่อนำอาหารสูตรที่ดีที่สุดคืออาหาร 1/4 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์เท่ากัน แต่ว่าอาหารสูตร 1/4 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร มีลักษณะของรากที่ยาว และหนามาก

รูปที่ 4.9 ลักษณะของรากและต้นลาเวนเดอร์ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร 1/4 MS ที่เสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างกัน โดยมีลักษณะการวางชิ้นส่วนแนวหัวกลับ เพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 14 วัน : (ก) ลักษณะรากและต้นที่เกิดในอาหารสูตร 1/4 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ข) ลักษณะรากและต้นที่เกิดในอาหารสูตร 1/4 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร (ค) ลักษณะรากและต้นที่เกิดในอาหารสูตร 1/4 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำอาหารสูตรที่ดีที่สุดของ อาหารสูตร MS ในแต่ละความเข้มข้นโดยมีลักษณะการวางแนวหัวกลับ มาทำการเปรียบเทียบกันเพื่อหาอาหารสูตรที่ดีที่สุดในการชักนำให้เกิดรากโดยมีลักษณะการวางแนวตั้ง พบว่าอาหารสูตร MS ที่ดีที่สุดคือ อาหารสูตร 1/4 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากที่สูงที่สุด คือ 100 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะของรากที่ยาวและหนา

ทำการคัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดจากในแต่ละลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชที่ส่งผลต่อการชักนำให้เกิดรากได้ดี โดยเก็บผลหลังจากทำการทดลองเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าอาหารสูตรที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิดราก คือ อาหารสูตร 1/4 MS ที่ประกอบด้วย NAA ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีลักษณะการวางแนวหัวกลับ เนื่องจากมีลักษะรากที่ ยาว หนา มีจำนวนมาก และความเร็วในการชักนำรากเร็วที่สุด

จากการทดลองพบว่าการวางชิ้นส่วนพืชในลักษณะที่ต่างกันจะส่งผลต่อความเร็วของการชักนำให้เกิดรากที่แตกต่างกันโดยลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชแนวตั้งจะเริ่มเห็นรากชัดเจนในวันที่ 7 ของการทดลอง ลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชแนวนอนจะเริ่มเห็นรากชัดเจนในวันที่ 5 ของการทดลอง ลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชแนวหัวกลับจะเริ่มเห็นรากชัดเจนในวันที่ 4 ของการทดลอง จะเห็นได้ว่าลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชแนวหัวกลับสามารถชักนำให้เกิดรากได้เร็วที่สุดโดยเกิดรากเร็วกว่าลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชอีก 2 แบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การศึกษาความเข้มข้นของวุ้นที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดราก

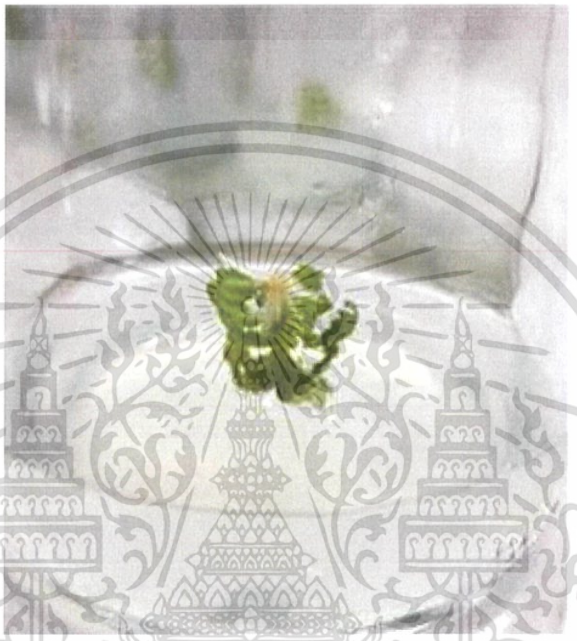
คัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมจากสูตรอาหารทั้ง 18 สูตร และลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชที่ส่งผลต่อการชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุดมาทำการศึกษาความเข้มข้นของวุ้นต่อไป โดยจะศึกษาความเข้มข้นของวุ้นที่ 0 ,0.4 และ0.8 เปอร์เซ็นต์ โดยจากการศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากพบว่าอาหารสูตรที่เหมาะสมที่สุดคือ อาหารสูตร 1/4 MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร และลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชที่ชักนำให้เกิดรากได้เร็วที่สุดคือ ลักษณะการวางแนวหัวกลับ ดังนั้นการศึกษาความเข้มข้นของวุ้น จึงศึกษาในอาหาร 1/4 MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ลักษณะการวางแบบหัวกลับ โดยมีความเข้มข้นของวุ้นที่ 0 ,0.4 และ0.8 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดลองของสูตรอาหาร 1/4 MS จากการทดลองพบว่าผลของการชักนำให้เกิดรากบนอาหารแข็งสูตร 1/4 MS โดยมีลักษณะการวางแนวหัวกลับ ที่มีความเข้มข้นของวุ้นเท่ากับ 0 เปอร์เซ็นต์ ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เริ่มเห็นรากชัดเจนเมื่อทำการเพาะเลี้ยงได้ 4 วัน และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 7 วัน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 50 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะของรากสั้นและบาง มีจำนวนน้อย ดังแสดงในรูปที่ 4.10

รูปที่ 4.10 ลักษณะรากและลำต้นของต้นลาเวนเดอร์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 1/4 MS โดยมีลักษณะการวางแบบหัวกลับ ที่มีความเข้มข้นของวุ้นเท่ากับ 0 เปอร์เซ็นต์ ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

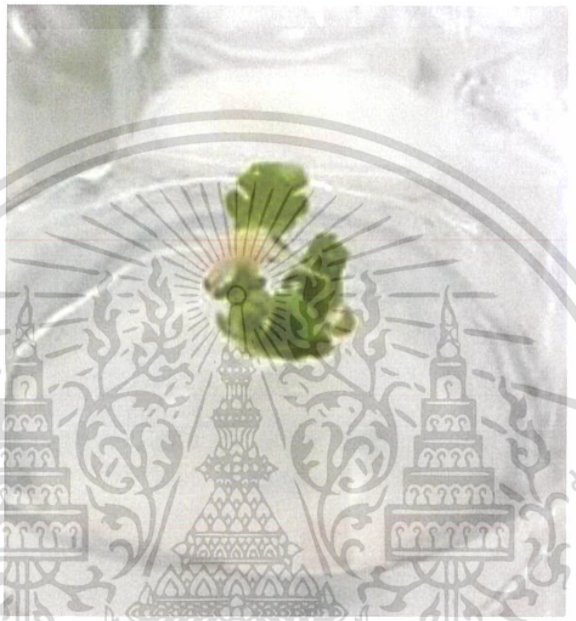
ผลการทดลองของสูตรอาหาร 1/4 MS จากการทดลองพบว่าผลของการชักนำให้เกิดรากบนอาหารแข็งสูตร 1/4 MS โดยมีลักษณะการวางแนวหัวกลับ ที่มีความเข้มข้นของวุ้นเท่ากับ 0.4 เปอร์เซ็นต์ โดยมีลักษณะการวางแนวหัวกลับที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เริ่มเห็นรากชัดเจนเมื่อทำการเพาะเลี้ยงได้ 4 วัน และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 7 วัน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 70 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะของรากสั้นและบาง มีจำนวนปานกลาง ดังแสดงในรูป 4.11



รูปที่ 4.11 ลักษณะรากและลำต้นของต้นลาเวนเดอร์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 1/4 MS โดยมีลักษณะการวางแนวหัวกลับ ที่มีความเข้มข้นของวุ้นเท่ากับ 0.4 เปอร์เซ็นต์ ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองของสูตรอาหาร 1/4 MS จากการทดลองพบว่าผลของการชักนำให้เกิดรากบนอาหารแข็งสูตร 1/4 MS โดยมีลักษณะการวางแนวหัวกลับ ที่มีความเข้มข้นของวุ้นเท่ากับ 0.8 เปอร์เซ็นต์ โดยมีลักษณะการวางแนวหัวกลับที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เริ่มเห็นรากชัดเจนเมื่อทำการเพาะเลี้ยงได้ 4 วัน และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 7 วัน มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 60 เปอร์เซ็นต์ มีลักษณะของรากสั้นมากและบาง มีจำนวนปานกลาง ดังแสดงในรูป 4.12



รูปที่ 4.12 ลักษณะรากและลำต้นของต้นลาเวนเดอร์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร 1/4 MS โดยมีลักษณะการวางแนวหัวกลับ ที่มีความเข้มข้นของวุ้นเท่ากับ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลอง จะเห็นได้ว่า เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นวุ้นที่ 0 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 50 เปอร์เซ็นต์ เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นวุ้นที่ 0.4 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 70 เปอร์เซ็นต์ และเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นวุ้นที่ 0.8 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 60 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 7 วัน ดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 เปอร์เซ็นต์การเกิดรากในสูตรอาหาร 1/4 MS ที่มีความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ที่ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร และเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของวุ้นที่แตกต่างกัน เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 7 วัน

สูตรอาหาร	สารควบคุมการเจริญเติบโต NAA (มิลลิกรัม/ลิตร)	เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของวุ้น	เปอร์เซ็นต์การเกิดรก
1/4 MS	0.6	0	50
		0.4	70
		0.8	60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 อภิปรายผลการทดลอง

จากการทดลองศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำรากของต้นลาเวนเดอร์ โดยศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของอาหาร MS ดังนี้ MS, 1/2 MS และ 1/4 MS ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ IBA ที่ความเข้มข้น 0.3, 0.6 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดรากได้ในทุกสูตร แต่สูตรอาหารที่สามารถชักนำการเกิดรากที่ดีที่สุดคือ อาหารสูตร 1/4 MS ที่มีการเสริมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงกว่า IBA และอาหารสูตรที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากและเพาะเลี้ยงต้นพืชอย่างมีประสิทธิภาพคือ 1/4 MS ที่ประกอบด้วย NAA 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากมีมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูง ลักษณะราก ยาว หนา มีจำนวนมาก และมีลักษณะของต้นที่ไม่เตี้ยแคระ ใบไม่เหลือง ซึ่งจากผลการทดลองมีความสอดคล้องกับงานวิจัย Andrade และคณะ (1999) ศึกษาผลของการลดความเข้มข้นของธาตุอาหาร MS ที่มีผลต่อการเกิดรากของลาเวนเดอร์ ทำการทดลองโดยใช้ชิ้นส่วนต่างๆ จากต้นพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าอาหารแข็ง MS ที่ความเข้มข้นของอาหาร 1/4 เท่า มีอัตราการเกิดรากและการเจริญของรากสูงกว่าอาหารแข็ง MS ปกติ แต่ในอาหารแข็ง MS ปกติ จะมีอัตราการเจริญของยอดดีกว่า และพบว่าอาหารแข็ง MS ที่มีการลดความเข้มข้นของธาตุอาหาร โดยเฉพาะในอาหารแข็ง 1/4MS ที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA พบว่ามีการเกิดรากได้ดีที่สุด

จากการทดลองโดยนำชิ้นส่วนของลาเวนเดอร์มาทำการเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่ต้องการศึกษา โดยจะแบ่งลักษณะการวางชิ้นส่วนออกเป็น 3 แบบ คือ วางแนวตั้ง วางแนวนอน วางแนวหัวกลับ โดยศึกษาลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชบนอาหารอย่างละ 18 สูตร ซึ่งจากการทดลองพบว่าลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชที่เหมาะสมต่อการทำให้เกิดรากได้ดีที่สุด คือ การวางแนวหัวกลับ เนื่องจากเริ่มเกิดรากเมื่อทำการเพาะเลี้ยงได้ 5 วัน ซึ่งระยะเวลาการเกิดรากเร็วที่สุดเมื่อเทียบกับลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชแบบวางแนวตั้ง และวางแนวนอน ตามลำดับ ซึ่งจากงานวิจัยของเฟรทและคณะ (1983) ได้ทำการศึกษาปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดรากเพิ่มขึ้นคือลักษณะการวางชิ้นส่วนของพืช ซึ่งผลการทดลองการเพาะเลี้ยงโดยการวางชิ้นส่วนพืชแนวหัวกลับให้ผลการเกิดรากที่ดี เนื่องจากคาดว่ารากได้รับออกซิเจนที่ง่ายขึ้น บางครั้งการวางชิ้นส่วนพืชในแนวนอนบนอาหารให้ผลการเกิดยอดดีที่สุด เนื่องจากการวางแนวนอนส่งเสริมการเกิดยอดด้านข้าง

จากการทดลองศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของวุ้นที่ 0 ,0.4 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ ที่ส่งผลต่อการชักนำให้เกิดราก โดยศึกษาบนสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดจากทั้ง 18 สูตร คือ อาหารสูตร 1/4 MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร และลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชที่เกิดรากเร็วที่สุดคือลักษณะการวางแนวหัวกลับ ดังนั้นการศึกษาความเข้มข้นของวุ้น จึงศึกษาในอาหารสูตร 1/4 MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชแนวหัวกลับ โดยมีความเข้มข้นของวุ้นที่ 0 ,0.4 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองพบว่าความเข้มข้นของวุ้นที่เหมาะสมต่อการทำให้เกิดรากได้ดีที่สุด คือวุ้นที่มีความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ในอาหาร 1/4 MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจาก มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 70 เปอร์เซ็นต์ โดยลักษณะของรากสั้นและบาง มีจำนวนปานกลาง ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงสุดเมื่อเทียบกับความเข้มข้นของวุ้น 0 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งงานวิจัยของ Suthar และคณะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2011) ได้ทำการศึกษาผลกระทบที่เกิดขึ้นในการเพาะเลี้ยงต้นกำยานในหลอดทดลองจากการแปรผันความเข้มข้นของวุ้นซึ่งจากผลการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของวุ้นระหว่าง 0.6 กับ 0.4 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่าอาหารเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้นของวุ้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลต่อการชักนำให้เกิดรากมากกว่าอาหารเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้นของวุ้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองพบว่าการใช้วุ้นที่ความเข้มข้นต่ำหรือไม่ใช่เลยสามารถชักนำรากและยอดได้เพิ่มมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

5.1.1 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดราก

จากการทดลองเพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากโดยนำชิ้นส่วนของต้นลาเวนเดอร์มาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง MS ความเข้มข้น 1MS, 1/2 MS และ 1/4 MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ IBA ที่ความเข้มข้น 0.3, 0.6 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยแต่ละสูตรทำการทดลอง 10 ซ้ำ เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ภายใต้แสง 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมเราจะศึกษาไปพร้อมกับการศึกษาลักษณะการวางชิ้นส่วนพืช และจากผลการทดลองจะเห็นว่าอาหารที่เหมาะสมที่สุดต่อการชักนำให้เกิดรากคืออาหารสูตร 1/4 MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากที่สูง และมีลักษณะราก ยาว หนา มีจำนวนมาก มีลักษณะของต้นที่ไม่เตี้ยแคระ ใบไม่เหลือง

5.1.2 การศึกษาลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดราก

นำชิ้นส่วนของต้นลาเวนเดอร์มาทำการเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่ต้องการศึกษา โดยจะแบ่งลักษณะการวางชิ้นส่วนออกเป็น 3 แบบ คือ วางแนวตั้ง วางแนวนอน วางแนวหัวกลับ โดยศึกษาลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชบนอาหารอย่างละ 18 สูตร โดยแต่ละสูตรทำการทดลอง 10 ซ้ำ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ เพาะเลี้ยงภายใต้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จากการทดลองพบว่าการวางชิ้นส่วนพืชในลักษณะที่ต่างกันจะส่งผลต่อความเร็วของการชักนำให้เกิดรากโดยลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชแนวตั้งจะเริ่มเห็นรากชัดเจนในวันที่ 7 ของการทดลอง ลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชแบบแนวนอนจะเริ่มเห็นรากชัดเจนในวันที่ 5 ของการทดลอง ลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชแบบหัวกลับจะเริ่มเห็นรากชัดเจนในวันที่ 4 ของการทดลอง ดังนั้นลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชที่เหมาะสมต่อการทำให้เกิดรากได้ดีที่สุด คือ การวางแนวหัวกลับ เนื่องจากเริ่มเห็นรากชัดเจนเมื่อทำการเพาะเลี้ยงได้ 4 วัน ซึ่งระยะเวลาการเกิดรากเร็วที่สุดเมื่อเทียบกับลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชแนวแนวตั้ง และแนวนอน ตามลำดับ

5.1.3 การศึกษาความเข้มข้นของวุ้นที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดราก

คัดเลือกสูตรอาหารจากสูตรอาหารทั้ง 18 สูตร และลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชที่ส่งผลต่อการชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุดมาทำการศึกษาความเข้มข้นของวุ้นต่อไป โดยจากการศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดรากพบว่าอาหารสูตรที่เหมาะสมที่สุดคือ อาหารสูตร 1/4 MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นการศึกษาความเข้มข้นของวุ้น จึงศึกษาในอาหาร 1/4 MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร และจากผลการทดลองลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชพบว่าลักษณะการวางแนวหัวกลับเกิดรากได้เร็วกว่าลักษณะการวางแนวอื่น ดังนั้นจึงเลือกลักษณะการวางชิ้นส่วนพืชแนวหัวกลับมาใช้ในการทดลองเรื่องความเข้มข้นของวุ้น โดยมีความเข้มข้นของวุ้นที่ 0 ,0.4 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ แต่ละสูตรทำการทดลอง 10 ซ้ำ เป็นระยะเวลา 7 วัน โดยเริ่มเห็นรากชัดเจนในวันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง และเมื่อครบ 7 วัน จากผลการทดลองจะเห็นว่าความเข้มข้นของวุ้นที่เหมาะสมต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด คือวุ้นที่มีความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ ในอาหาร 1/4 MS ที่ประกอบด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื่องจาก มีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 70 เปอร์เซ็นต์ โดยลักษณะของรากสั้นและบาง มีจำนวนปานกลาง ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงสุดเมื่อเทียบกับความเข้มข้นของวุ้น 0 และ 0.8 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรศึกษาสารควบคุมการเจริญเติบโตที่นอกเหนือจากการทดลองเพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการพัฒนาการเจริญของยอดเพื่อใช้ในการขยายพันธุ์ต่อไป

5.2.2 ควรศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงลาเวนเดอร์นอกเหนือจากอาหารแข็งสูตร MS

5.2.3 ควรศึกษาเรื่องการปรับสภาพของต้นลาเวนเดอร์หลังจากนำออกจากขวดทดลองเพื่อเตรียมย้ายลงสู่ดินต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรณ์ กรภัทร์ชัยกุล, 2552. **การจัดการห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.academia.edu/7311624/.

กุลรัตน์ เชิดจารีวัฒนานันท์. 2542. **กลิ่นหอมเร้าอารมณ์**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.thummada.com/cgi-in/iB315/ikonboard.pl?act=ST;f=8;t=145;st=10.

คำบุญ กาญจนภูมิ. 2542. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

งานปฏิบัติการวิทยาศาสตร์กลาง. 2558. ความรู้ทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.lartc.rmutl.ac.th/ptclab/Tissue%20Culture/usuful.html.

ณัฐฏา ฉิมพาลี, ภัทราพร สัตยสุวรรณ, และรุ่งทิวา กรัณยาธิกุล. 2558. "การขยายพันธุ์ลาเวนเดอร์ (*Lavandula dentata.*) โดยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในอาหาร Gamborg B-5." วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ธนาวุฒิ ณะคำ. 2558. **ลาเวนเดอร์**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.angkhangstation.com/index.php?group=Media&page=NewsDetail&id=350/.

นันท์ชนก เปียแก้ว,วิภาวดี ลี้มิ่งสวัสดิ์ และถนอมวงศ์ กฤษณ์เพ็ชร์. 2558. "ผลของการสูดดมน้ำมันลาเวนเดอร์ที่มีต่อการลดความเครียดและคลื่นสมองของหญิงวัยรุ่น." วารสารวิทยาศาสตร์การกีฬาและสุขภาพ. 16(2) : 63-72.

พีรเดช ทองอำไพ. 2555. **สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.thaikasetsart.com/สารควบคุมการเจริญเติบโต/.

ไพบูลย์ กวินเลิศวัฒนา. 2542. **หลักการและวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. กรุงเทพฯ : ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน. 2550. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://kanchanapisek.or.th/kp6/sub/Ebook/Ebook.php?book=31.

อโรมาฮับ. 2558. **ลาเวนเดอร์มีกี่ชนิด**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.aromahub.com/th/articles-thai/2013-05-12-04-20-05/93-2015-01-04-12-01-14/.

อ้อมบุญ วัลลิสุต. 2557. **น้ำมันหอมระเหยชีวิตนี้ขาดเธอไม่ได้**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/196/น้ำมันหอมระเหย/.

Andrade, L.B. Echeverrigaray, S. Fracaro, F. Pauletti, G.F. & Rota, L. 1999. "The effect of growth regulators on shoot propagation and rooting of common lavender (*Lavandula vera* DC)." *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 56(2) : 79–83.

Calvo MC, Segura J. 1989. "*In vitro* propagation of Lavender." *Hortscience*. 24(2) : 375–376.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chawla HS. Introduction to plant biotechnology. 3rd ed. Enfield: Science Publishers; 2009.

Echeverrigaray, S., Basso R. Andrade L.B. 2005. "Micropropagation of *Lavandula dentata* from axillary buds of field-grown adult plants". *Biologia Plantarum*. 49(3) :439-442.

Frett, J.J. and J.M. Smagula. 1983. "*In vitro* shoot production of lowbush blueberry." *Plant Sci*. 63 :467-472.

George EF, Debergh PC. Micropropagation: uses and methods. In: George EF, Hall MA, DeKlerk GJ, editors. Plant propagation by tissue culture. Dordrecht: Springer; 2008.

Pierik, R.L.M. *In Vitro* Culture of Higher Plants. Netherlands : Springer Netherlands Publisher; 1999.

Sandra, G. Anabela, R. 2012. "*In vitro* culture of lavenders (*Lavandula* spp.) and the production of secondary metabolites." *Biotechnology Advances*. 31(2) : 166-174.

Suthar, R.K. Habibi, N. Purohit, S.D. 2010. "Influence of agar concentration and liquid medium on *in vitro* propagation of *Boswellia serrate* Roxb." *Indian Journal of Biotechnology*. 10(2) : 224-227.

Tsuro, M. Koda, M. Inoue, M. 2000. "Efficient plant regeneration from multiple shoots formed in the leaf-derived callus of *Lavandula vera*,using the open culture system." *Breeding Science*. 86(1) : 81-88.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ตาราง ก.1 Murashige and Skoog Basal medium (MS)

	Final medium Mg/l	Stock solution g/5l	
NH_4NO_3	1650	165	Macroelements store at +4 °C;
KNO_3	1900	190	50 ml stock solution/l medium
$CaCl_2 \times 2H_2O$	440	44	
$MgSO_4 \times 7H_2O$	370	37	
KH_2PO_4	170	17	
		g/l	
H_3BO_3	6.2	1.24	Microelements store at
$MnSO \times H_2O$	16.9	3.38	-20 °C in aliquots; 5 ml stock
$ZnSO_4 \times 7H_2O$	10.6	1.72	Solution/l medium
KJ	0.83	0.166	
$Na_2MoO_4 \times 2H_2O$	0.25	0.05	
$CuSO_4 \times 5H_2O$	0.025	0.005	
$CoCl_2 \times 6H_2O$	0.025	0.005	
		g/l	
$Na_2EDTA \times 2H_2O$	37.3	7.46	Iron chelate boil to dissolve,
$FeSO_4 \times 7H_2O$	27.5	5.57	Store dark at 4 °C; 5 ml stock
			Solution/l medium
		g/l	
Nicotinic acid	0.5	0.1	Vitamins store at -20 °C in
Pyridoxine HCl	0.5	0.1	aliquots; 5 ml stock solution/l

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thiamine HCl	0.1	0.02	medium
Glycine	2.0	0.4	
myo-inositol	100	20	
Agar	0.7%		not in MS liquid

pH 5.7-5.8 adjust with 1 M KOH, autoclave at 121 °C for 20 min.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้