2074-1

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

T100039

เรื่อง

สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนต้นขมิ้นชัน

The Suitable Medium for Propagation of Termaric (*Curcuma longa* Linn.)

โดย

นางสาวณหทัย ร่มแก้ว

นายนิพรรณศร คดีโลก

สาขาวิชาพืชไร่

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนพงศ

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พุทธศักราช 2546

ปพ.
ณ259ส
2546
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 100039
วัน.เดือน.ปี 17 JUN 2003

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี
ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนต้นขมิ้นชัน

The Suitable Medium for Propagation of Termaric (*Curcuma longa* Linn.)

โดย
นางสาวณหทัย ร่มแก้ว
นายนิพรรณศร คดีโลก

ได้รับความเห็นชอบโดย

.....

(อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนพงศ)
อาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รศ.ดร. สมยศ เดชภิรัตนมงคล)
หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่ 24 เดือน ม.ค. พ.ศ. 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

การทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ได้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี คณะผู้จัดทำต้องขอกราบขอบพระคุณ ท่านอาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนพงศ อาจารย์ที่ปรึกษาที่กรุณาให้คำแนะนำช่วยเหลือทั้งในด้านความรู้ หนังสือค้นคว้า อุปกรณ์ต่างๆ รวมทั้งสถานที่ทำการศึกษาทดลองและยังช่วยแก้ปัญหาต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการทดลองตลอดเวลา

กราบขอบพระคุณพ่อแม่ที่ให้การสนับสนุนในทุกๆ ด้านไม่ว่าจะเป็นค่าใช้จ่ายหรือความสะดวกในการเดินทางไปศึกษาหาข้อมูลหรือวัสดุนอกสถานที่

ขอบพระคุณ พี่อ้อย ที่ช่วยเหลือเรื่องทุกอย่างตั้งแต่เตรียมอาหารไปจนถึงขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ณหทัย ร่มแก้ว

นิพรรณศร คดีโลก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง : สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนต้นขมิ้นชัน
The Suitable Medium for Propagation of Termaric
โดย : นางสาวณหทัย ร่มแก้ว
นายนิพรรณศร คดีโลก
สาขาวิชาพืชไร่ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนพงศ

บทคัดย่อ

การศึกษาวิธีการขยายพันธุ์ขมิ้นชัน เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสม โดยนำ clean culture ขมิ้นชันมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA (ฮอร์โมนพืชในกลุ่มไซโตไคนิน) สองความเข้มข้น คือ 1 และ 3 mg/l พบว่าขมิ้นชันที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA 3 mg/l แตกตาและเจริญเติบโตดีกว่าที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA 1 mg/l เมื่อ subculture ลงในอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน BA ต่างกัน คือ 0 , 0.25 , 0.5 , 1 , 2 , 3 และ 5 mg/l โดย subculture ทั้งหมด 2 ครั้ง ใช้เวลาในการสังเกตการเจริญเติบโต ครั้งละ 45 วัน โดยแต่ละครั้งจะทำการบันทึกผลการเพิ่มจำนวนต้นและปริมาณของรากทุกครั้ง พบว่า ขมิ้นชันที่ subculture มาเลี้ยงในอาหารสูตรที่มี BA 5 mg/l จะมีการเพิ่มจำนวนต้นและเจริญเติบโตได้ดีกว่า BA ที่มีความเข้มข้นลดลง คือ 3 , 2 , 1 , 0.5 , 0.25 และ 0 mg/l ตามลำดับ ทั้งที่ใช้ explants จาก BA 3 และ 1 mg/l แต่พบว่า การใช้ explants จาก BA 3 mg/l จะเพิ่มจำนวนต้นและการเจริญเติบโตได้ดีกว่าการใช้ explants จาก BA 1 mg/l แต่ในทางกลับกันนั้นปริมาณรากกลับมีปริมาณลดลงไป ตามระดับความเข้มข้นของ BA ที่เพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ABSTRACT

The aim was to investigate the suitable medium for propagation of termaric . The experiment was tested by using medium (MS) with differenttial concentration of BA 1mg/l and 3 mg/l . Concentration of BA 3 mg/l is better than in MS + BA 1 mg/l . The termaric growers is called " explants " . After that , these explants were cultured for 2 subcultures . Which their age were 45 days of each subculture in differential concentration of BA with 0 , 0.25 , 0.5 , 1 , 2 , 3 and 5 mg/l . Consequently , explants could be better propagating and growing in BA 5 mg/l .

The result was showed that explants could be better growing and propagating in medium which containing the higher of BA but they would be effected to amount of root by decreasing .

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

สารบัญตาราง	ก
สารบัญภาพ	ข
คำนำ	ค
วัตถุประสงค์	ง
การตรวจเอกสาร	1
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	16
สรุปผลการทดลอง	31
เอกสารอ้างอิง	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตอนที่ 1 หน้า

ตารางที่ 1 แสดงผลของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขมิ้นชัน ในอาหารสูตรต่างๆ เมื่ออายุ 45 วัน โดยแสดงผลเป็นระดับคะแนนการเจริญเติบโตของต้น 20

ตารางที่ 2 แสดงผลของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขมิ้นชัน ในอาหารสูตรต่างๆ เมื่ออายุ 45 วัน หลัง Subculture ครั้งที่ 2 โดยแสดงผลเป็นระดับคะแนนการเจริญเติบโตของต้น 21

ตารางที่ 3 แสดงผลของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขมิ้นชัน ในอาหารสูตรต่างๆ เมื่ออายุ 45 วัน โดยแสดงผลเป็นระดับคะแนนการเจริญเติบโตของราก 22

ตารางที่ 4 แสดงผลของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขมิ้นชัน ในอาหารสูตรต่างๆ เมื่ออายุ 45 วัน หลัง Subculture ครั้งที่ 2 โดยแสดงผลเป็นระดับคะแนนการเจริญเติบโตของราก 23

ตอนที่ 2

ตารางที่ 5 แสดงผลของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขมิ้นชัน ในอาหารสูตรต่างๆ เมื่ออายุ 45 วัน โดยแสดงผลเป็นระดับคะแนนการเจริญเติบโตของต้น 24

ตารางที่ 6 แสดงผลของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขมิ้นชัน ในอาหารสูตรต่างๆ เมื่ออายุ 45 วัน หลัง Subculture ครั้งที่ 2 โดยแสดงผลเป็นระดับคะแนนการเจริญเติบโตของต้น 25

ตารางที่ 7 แสดงผลของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขมิ้นชัน ในอาหารสูตรต่างๆ เมื่ออายุ 45 วัน โดยแสดงผลเป็นระดับคะแนนการเจริญเติบโตของราก 26

ตารางที่ 8 แสดงผลของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขมิ้นชัน ในอาหารสูตรต่างๆ เมื่ออายุ 45 วัน หลัง Subculture ครั้งที่ 2 โดยแสดงผลเป็นระดับคะแนนการเจริญเติบโตของราก 27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงการเจริญเติบโตของขมิ้นชัน เมื่ออายุ 60 วัน ที่เลี้ยงในอาหาร สูตร MS + BA 1 mg / l	29
2	แสดงการเจริญเติบโตของขมิ้นชัน เมื่ออายุ 60 วัน ที่เลี้ยงในอาหาร สูตร MS + BA 3 mg / l	29
3	แสดงต้นมาตรฐานที่ใช้ในการให้คะแนนต้นขมิ้นชัน ที่เลี้ยงในอาหาร สูตร MS + BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (ตอนที่ 1)	30
4	แสดงต้นมาตรฐานที่ใช้ในการให้คะแนนต้นขมิ้นชัน ที่เลี้ยงในอาหาร สูตร MS + BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลัง Subculture ครั้งที่ 2 (ตอนที่ 1)	30
5	แสดงต้นมาตรฐานที่ใช้ในการให้คะแนนต้นขมิ้นชัน ที่เลี้ยงในอาหาร สูตร MS + BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (ตอนที่ 2)	31
6	แสดงต้นมาตรฐานที่ใช้ในการให้คะแนนต้นขมิ้นชัน ที่เลี้ยงในอาหาร สูตร MS + BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลัง Subculture ครั้งที่ 2 (ตอนที่ 2)	31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* Linn.) เป็นไม้ของเอเชียแถบร้อนชอบอากาศชื้น ปลูกเพื่อใช้เหง้าเป็นเครื่องเทศ แต่งสี และใช้เป็นสมุนไพรรักษาโรค เพาะปลูกในประเทศอินเดีย ประเทศอินโดนีเซีย ประเทศจีนตอนใต้ และประเทศไทย เหง้าของขมิ้นชันนิยมเก็บเกี่ยวในเดือนพฤศจิกายนและธันวาคม (ถนอมศรี,2538) เพื่อนำมาประกอบอาหารให้มีสีสันสวยงาม และกลิ่นหอมชวนรับประทาน นอกจากนั้น ขมิ้นชันยังเป็นสมุนไพรที่ช่วยในการรักษาโรคผิวหนัง ผื่นคัน ขับลม ท้องร่วง รักษาแผลในกระเพาะอาหาร (ปัจจุบัน,2541) ต้านการอักเสบ บำบัดอาการฟกช้ำและไขข้ออักเสบได้ (ถนอมศรี ,2538) สมัยโบราณมีการนำขมิ้นชันมาบดให้ละเอียดใช้เป็นผงขมิ้นขัดผิวจนถึงยุคปัจจุบันได้ใช้ประโยชน์จากสารที่ให้สีเหลืองและน้ำมันหอมระเหยในขมิ้นชันมาเป็นส่วนประกอบในการผลิตยาและเครื่องสำอางมากมาย (คณะกรรมการสภาวิจัยแห่งชาติ,2540) ขมิ้นชันที่ปลูกกันอยู่ในปัจจุบันมีคุณสมบัติในการให้สารออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันไป การนำสายพันธุ์ที่ให้สารออกฤทธิ์สูงมาส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกจะต้องใช้จำนวนต้นเป็นปริมาณมาก ดังนั้นถ้าใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาขยายพันธุ์จะเป็นการเพิ่มจำนวนต้นให้ได้มากในระยะเวลาที่รวดเร็วได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาถึงสูตรอาหารที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์ขมิ้นชันให้ได้ต้นจำนวนมาก โดยใช้สูตรอาหารที่มีความเข้มข้นของฮอร์โมนต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

ขมิ้นชัน มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Curcuma longa* Linn. หรือ *Curcuma domestica* Valenton. เป็นพืชในวงศ์หรือตระกูล Zingiberaceae. ชื่อสามัญ Turmeric. และมีชื่อท้องถิ่นหลายชื่อ เช่น ขมิ้น ขมิ้นชัน (ภาคกลาง) ขมิ้นแดง ขมิ้นหยวก (ถนอมศรี,2538) ขมิ้นแกง ขมิ้นหัว (เชียงใหม่) ตายอ (กำแพงเพชร) สะยอ (แม่ฮ่องสอน) ขี้มิ้น หรือหมิ้น (ภาคใต้) (ปัจจุบัน,2541)

ขมิ้นชันเป็นพืชล้มลุกที่ขึ้นเป็นกอ ต้นสูงไม่เกิน 1 เมตร มีเหง้าอยู่ใต้ดิน ซึ่งสามารถแบ่งเป็น เหง้า (whole rhizome) หัว (bulb or primary rhizome) และแง่ง (finger or secondary rhizome) เนื้อในของเหง้าเมื่อหักดูมีสีเหลืองจนถึงสีส้มปนน้ำตาล (ถนอมศรี,2538) หรืออาจเป็นสีแสดเข้ม (ปัจจุบัน,2541) เหง้าใต้ดินส่วนตรงกลางมีขนาดใหญ่รูปไข่ มีแขนงรูปทรงกระบอกแตกออกด้านข้าง 2 ข้างตรงข้ามกันคล้ายนิ้วมือ (พร้อมจิต,2537) เนื้อในของขมิ้นชันมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว ใบเป็นใบเดี่ยว ก้านใบยาว ใบเหนียว ลักษณะเรียว ปลายแหลม ใบเป็นรูปหอก ขอบใบเรียบดูคล้ายใบพุทธรักษา มีความกว้างประมาณ 8 – 10 เซนติเมตร ความยาวประมาณ 30 – 40 เซนติเมตร ความยาวของก้านใบประมาณ 8 – 15 เซนติเมตร ใบประดับมีสีเขียวอ่อนๆหรือสีขาว (พร้อมจิต,2532) ดอกของขมิ้นชันออกเป็นช่อแทงขึ้นมาจากบริเวณก้านใบ กลีบรองและกลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นรูปท่อมีขนเล็กน้อย สีของกลีบดอกมีสีขาว ดออกย่อยมีสีเหลืองอ่อนและมีกลีบประดับสีเขียวอมชมพู ระหว่างเดือน มีนาคม – พฤษภาคม เป็นช่วงที่ขมิ้นชันออกดอก การบานของดอกจะบานครั้งละ 3 – 4 ดอก และผลของขมิ้นชันมีลักษณะกลมประกอบไปด้วยพู 3 พู

<u>การปลูก</u> (ปัจจุบัน,2541)

ขมิ้นชันเป็นพืชที่ชอบอากาศที่ค่อนข้างร้อน และมีความชุ่มชื้นในเวลากลางคืน ชอบดินร่วนซุยที่ระบายน้ำได้ดี วิธีการปลูก ใช้เหง้าแก่ที่มีอายุประมาณ 11 – 12 เดือน ตัดเป็นท่อนให้มีตาท่อนละ 1- 2 ตา ปลูกลงแปลงในหลุมลึกประมาณครึ่งคืบถึงหนึ่งคืบ หลังจากปลูก 5 – 7 วัน ขมิ้นจะเริ่มงอกหากฝนไม่ตกควรรดน้ำทุกวัน เมื่อปลูกได้ประมาณ 7 เดือน ใบขมิ้นจะเริ่มมีสีเหลือง แสดงว่าหัวขมิ้นเริ่มแก่ให้ปล่อยขมิ้นไว้ในแปลงต่อจนอายุครบ 9 – 10 เดือน จึงค่อยขุดมาใช้ได้

<u>ส่วนที่ใช้เป็นยา</u> (ปัจจุบัน,2541)

ส่วนมากนิยมใช้เหง้าแห้งและเหง้าสด

<u>ส่วนประกอบ</u> (วีณา,2543)

ในขมิ้นชันประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรต เส้นใย โปรตีน แคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก วิตามินบี วิตามินบี2 และไนบาซิลลัส นอกจากนี้ยังมีน้ำมันหอมระเหยที่ประกอบด้วยสารต่างๆ ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เทอร์เมอโรน (Turmerone) เคอร์คิวมิน (Curcumin) แอทแลนโทน (Atlantone) ซินโทรไบริน (Sytrobirin) และ ซินจิเบอโรน (Zingiberone)

<u>รสและสรรพคุณยาไทย</u>

รสฝาด กลิ่นหอม สรรพคุณขมิ้นชันสามารถแก้โรคผิวหนัง ผื่นคัน ขับลม ท้องร่วง รักษาแผลในกระเพาะอาหาร (ปัจจุบัน,2541) แก้อาการท้องอืด ท้องเฟ้อ มีสาร เคอร์คิวมิน ที่มีฤทธิ์ยับยั้งการหลั่งของกรดในกระเพาะอาหาร ช่วยเพิ่มแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อรา แบคทีเรีย และไวรัส บรรเทาอาการแพ้ ช่วยสมานแผลและบำรุงผิว มีสารต้านอนุมูลอิสระ สาร ซินโทรไบริน ส่งผลให้ถุงน้ำดีบีบตัว สามารถขับน้ำดีได้มาก จึงมีสรรพคุณในการป้องกันเซลล์ตับจากอันตรายที่อาจเกิดจากยา หรือสารแปลกปลอม รักษาอาการนิ่วในถุงน้ำดี (วีณา,2543) ลดระดับไขมันในเส้นเลือด (รุ่งระวี,2536)

<u>สารที่สำคัญ</u>

สารที่สำคัญในเหง้าขมิ้นชันได้แก่น้ำมันหอมระเหย (Essential oil) ประมาณ 2 – 6 % เป็นน้ำมันสีเหลืองและมีสารสีเหลืองส้ม (ปัจจุบัน,2541)

สารที่ให้สีเหลืองส้มรวมเรียกว่า สารเคอร์คูมินอยด์ (Curcuminoids) 5 % ซึ่งเป็นสารพวก Diaryl heptanoid ประกอบด้วยสารที่สำคัญ คือ สาร เคอร์คิวมิน (Curcumin) เป็นสาร Diferruloylmethane อยู่รวมกับ Dicaffeoylmethane และ Caffeoylferulomethane (ถนอมศรี,2538)

สารเคอร์คูมินอยด์ (Curcuminoids) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถสลายอนุมูลอิสระและป้องกันอันตรายที่เกิดจากอนุมูลอิสระด้วย (วีณา,2543)

ส่วนคุณสมบัติของสาร เคอร์คิวมิน (Curcumin) ซึ่งมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า bis – (4 – hydroxyl – 3 – methoxycinnamoyl) – methane สามารถทำให้เชื้อแบคทีเรียในลำไส้ลดการใช้กลูโคสจึงลดการเกิดก๊าซลงได้ นอกจากนี้สารเคอร์คิวมิน ยังช่วยในการเพิ่มน้ำย่อยทำให้การย่อยอาหารดีขึ้น อาการจุกเสียดจึงลดลง นอกจากนี้สารเคอร์คิวมิน ยังมีสรรพคุณในการต้านไวรัส ลดการอักเสบ บรรเทาอาการปวดบวมตามข้อ ลดระดับคอเลสเตอรอลโดยการเร่งการผลิตและส่งออกจากตับไปสู่ลำไส้เล็กพร้อมกับน้ำดี และช่วยให้ฮอร์โมนอินซูลินย่อยสลายน้ำตาลจึงช่วยผู้ป่วยเบาหวานควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ (วีณา,2543)

<u>การใช้ประโยชน์จากขมิ้นชัน</u>

จากการที่ขมิ้นชันเป็นพืชสมุนไพรที่มีกลิ่นหอมและให้สีเหลืองสวยงามจึงมีการนำขมิ้นชันมาทำเป็นเครื่องเทศใช้ในการประกอบอาหารคาวหวาน (พร้อมจิต,2532)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีการนำขมิ้นชันมาใช้ในการรักษาโรค เช่น รักษาแผลที่ผิวหนังโดยการพอก รักษาอาการฟกช้ำและต้านการอักเสบ อาจใช้ในการรักษาฝีที่มีหนองซึ่งเกิดจากเชื้อ Staphyllococcus aureus หรือใช้รักษาโรคกระเพาะอาหารได้ (ถนอมศรี,2538)

การนำขมิ้นชันมาใช้ประโยชน์โดยการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ เช่น ผลิตภัณฑ์ชาขมิ้นชันบำรุงสุขภาพ และผลิตภัณฑ์ในรูปเครื่องสำอาง ได้แก่ ผงขัดผิวเพื่อให้ผิวมีสีเหลืองนวลเนียน โลชั่นขมิ้นชันช่วยให้ผิวชุ่มชื้นจากน้ำมันหอมระเหย สบู่ขมิ้นชันแก้ผื่นคัน เป็นต้น (คณะกรรมการสภาวิจัยแห่งชาติ,2540)

การศึกษาและวิจัยที่เกี่ยวกับขมิ้นชัน โดยการใช้น้ำคั้นจากหัวขมิ้นชัน ให้ผู้ป่วยที่มีอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ 100 ราย เทียบกับผู้ป่วยที่ใช้ยา Flatulence 100 ราย ได้ผล 77 % และ 79 % ตามลำดับ ทำให้ทราบว่าน้ำคั้นหัวขมิ้นชันมีฤทธิ์ลดการบีบตัวของกล้ามเนื้อกระเพาะอาหารที่เกิดจาก acetyl choline , serotonin และ แบเรียมคลอไรด์ได้ สำหรับการรักษาแผลในกระเพาะอาหารนั้นพบว่า เคอร์คิวมิน (Curcumin) น่าจะออกฤทธิ์กระตุ้นการหลั่ง secretin และ gastrin ซึ่งป้องกันโรคกระเพาะอาหาร ทั้งยังทำให้มีการหลั่ง mucin มาเคลือบกระเพาะมากขึ้น (พร้อมจิต,2537)จากการที่มีการหลั่ง mucin ในกระเพาะอาหารเพิ่มขึ้นจึงช่วยรักษาแผลในกระเพาะอาหาร (วันดี,2536)

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้ศึกษาผลของยาแคปซูลขมิ้นชัน ในผู้ป่วยที่มีอาการปวดท้องเนื่องจากแผลเปื่อยในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กดู โอดินั่มโดยดูการเปลี่ยนแปลงของเยื่อบุผนังภายในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กดูโอดินั่ม ด้วยกล้องส่องตรวจ (Endoscope) ในผู้ป่วยชาย 8 ราย หญิง 2 ราย อายุระหว่าง 16 – 60 ปี ผู้ป่วยที่มีแผลเปื่อย 10 รายนี้ เป็นแผลในลำไส้เล็ก 2 รายมีขนาดแผล 0.5 – 1.5 เซนติเมตร โดยให้รับประทานขมิ้นชันขนาดแคปซูลละ 250 มิลลิกรัม ครั้งละ 2 แคปซูล ก่อนอาหาร 3 มื้อ ครึ่งถึงหนึ่งชั่วโมงและก่อนนอน ปรากฏว่าแผลของผู้ป่วยหายเรียบร้อยภายใน 4 สัปดาห์ ผลเป็นที่น่าพอใจจึงสนับสนุนให้ประชาชนได้ใช้ (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์,2535)

<u>การขยายพันธุ์พืชโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ</u>

นับตั้งแต่ทฤษฎีเซลล์ (cell theory) ตั้งขึ้นมาโดย Schwann และ Schleiden ในปี ค.ศ. 1839 โดยมีใจความว่า สิ่งมีชีวิตทั้งหลายประกอบด้วยอนุภาคเล็กๆ ซึ่งเรียกว่า “ เซลล์ ” นักวิทยาศาสตร์ทางการแพทย์ได้พยายามเลี้ยงเนื้อเยื่อของสัตว์และคน โดยสามารถทำให้เนื้อเยื่อของสัตว์และคนมีชีวิตอยู่และมีการเจริญเติบโตได้สำเร็จ การขยายพันธุ์โดยใช้ชิ้นส่วนเล็กๆ (explant) อย่างไรก็ตามการใช้เนื้อเยื่อสัตว์และคนนั้น ก็ถูกจำกัดเพียงมีการเจริญเติบโตเท่านั้น ไม่สามารถที่จะชักนำให้เนื้อเยื่อเหล่านี้พัฒนาเป็นอวัยวะที่ทำหน้าที่ต่างๆ ได้แม้จะมีหนังสือโบราณที่เคยเขียนไว้ว่าเนื้อเยื่อของคนสามารถที่จะเลี้ยงให้เจริญเป็นคนที่สมบูรณ์ได้ ที่เรียกว่า “ โคลน” (clone) ก็ตามยังไม่มีหลักฐานที่ยืนยันแน่นอนว่าหนังสือโบราณนั้น เป็นเพียงนิยายหรือความคิดฝันของนักวิทยาศาสตร์สมัยก่อน หรือว่าเป็นความจริงแต่หลักฐานเก่าๆ ได้ถูกทำลายไป และยังไม่มีใครทำได้อีกอย่างไรก็ตาม สำหรับด้านพืชนั้น ได้มีการค้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค้วาภายหลังจากการค้นคว้าทางด้านสัตว์ ในปี 1902 นักวิทยาศาสตร์ชื่อ Haberlandt ได้คิดค้นว่าเนื้อเยื่อพืชซึ่งประกอบด้วยเซลล์ น่าจะนำมาเลี้ยงให้มีชีวิต (ไพบูลย์,2524) การขยายพันธุ์โดยใช้ชิ้นส่วนเล็กๆ (explant) ของพืชมาเลี้ยงในอาหารพิเศษภายใต้สภาพปลอดเชื้อทำให้ชิ้นส่วนเล็กๆ (ภัชนา,2527) และเจริญเติบโตได้เหมือนเนื้อเยื่อของสัตว์ การทดลองค้นคว้าเกี่ยวกับการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงได้เริ่มขึ้นนับตั้งแต่นั้นมา และประสบความสำเร็จก้าวหน้าอย่างรวดเร็วกว่าการเลี้ยงเนื้อเยื่อของสัตว์และคนมาก (ไพบูลย์,2524)

ความเจริญก้าวหน้าทางเทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ทำให้นักวิทยาศาสตร์เข้าใจพืชยิ่งขึ้นทั้งทางด้านสรีระ กายภาพ และพฤติกรรมของพืช สามารถนำความรู้นี้ไปใช้ควบคุมการทำงานและพฤติกรรมของพืชบางอย่างได้ เทคนิคนี้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในเชิงการค้าได้กว้างขวางโดยเฉพาะอย่างยิ่งการขยายพันธุ์กล้วยไม้พันธุ์ดีให้ได้ปริมาณมาก ในระยะเวลาอันสั้นได้สำเร็จ ทำให้อุตสาหกรรมกล้วยไม้ตัดดอกแผ่ขยายได้เร็วในประเทศไทย ปัจจุบันต้นกล้วยไม้ที่ได้คัดเลือกแล้วได้ถูกนำไปขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ปีละหลายล้านต้น ในทำนองเดียวกันได้นำเทคนิคนี้ไปใช้ผลิตกิ่งปักชำในสหรัฐอเมริกาและในยุโรปของไม้ดอกบางประเภท เช่น เบญจมาศ คาร์เนชั่น เป็นต้น ต้นพ่อแม่ที่ใช้เป็นต้นให้กิ่งปักชำจะถูกผลิตขึ้นด้วยเทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อให้ได้พืชที่ปราศจากโรค โดยเฉพาะเชื้อวิสา(virus)อันจะทำให้ได้กิ่งปักชำที่แข็งแรงสมบูรณ์ ซึ่งทำให้ผลผลิตสูงและคุณภาพดี (ไพบูลย์,2524)

<u>ความหมายของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ</u>

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หมายถึง การนำชิ้นส่วนของพืชชนิดใดก็ได้ เช่น อวัยวะต่างๆ ข้อ ตา ปลายยอด ราก เนื้อเยื่อ parenchyma หรือโปรโตพลาสมาเลี้ยงในอาหารวิทยาศาสตร์ ที่สังเคราะห์ขึ้นซึ่งประกอบไปด้วยเกลือแร่ ธาตุอาหารต่างๆ วิตามิน น้ำตาล และสารควบคุมการเจริญเติบโต (growth regulater) ในกลุ่มของ auxin หรือ cytokinin เนื้อเยื่อจะถูกเก็บไว้ในสภาพปลอดเชื้อจุลินทรีย์ และควบคุมสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิประมาณ 25 – 28 องศาเซลเซียส ได้รับแสงประมาณ 1,000 – 2,000 ลักซ์ ชิ้นส่วนต่างๆ ของพืชจะสามารถพัฒนาเป็นต้นพืชโดยตรง หรือเจริญเป็นแคลลัส หรือเอมบริออย (embryoid) และหลังจากนั้นพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ต่อไป (รงรอง,2542)

ในปัจจุบันเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้แพร่หลายไปทั่วโลก (ศิวพงศ์,2541) ได้รับความสนใจมากในกิจการไม้ดอก ไม้ประดับอื่นๆ ผลไม้ ผัก พืชไร่ทั่วไป และแม้กระทั่งในวงการป่าไม้ ซึ่งนับวันเทคนิคนี้จะขยายความสำคัญยิ่งขึ้นทุกทีๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งทางด้านการเกษตรอันเป็นอาชีพหลักของคนไทย (ไพบูลย์,2524)

<u>การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช</u> สามารถจำแนกเป็นกลุ่มใหญ่ได้ ดังนี้ (รงรอง,2542)

1. การเพาะเลี้ยงอวัยวะ (organ culture) เช่นการเพาะเลี้ยงปลายยอด (shoot tip culture) การเพาะเลี้ยงปลายราก (root tip culture) การเพาะเลี้ยงตาข้าง (axillary bud culture) การเพาะเลี้ยงใบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(leaf culture) การเพาะเลี้ยงดอก (flower culture) การเพาะเลี้ยงผล (fruit culture) การเพาะเลี้ยงไข่อ่อนและรังไข่ (ovule and ovary culture) การเพาะเลี้ยงละอองเกสรและอับละอองเกสร (pollen and anther culture) การเพาะเลี้ยงคัพภะ (embryo culture) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญ (meristem culture)

2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหรือแคลลัส (tissue or callus culture) เช่นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพาเรนไคมา (จาก storing organ)

3. การเพาะเลี้ยงเซลล์ (cell culture) เช่น การเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอย (suspension culture) การเพาะเลี้ยงเซลล์เดี่ยว (single cell culture)

4. การเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์ (protoplast culture) เช่น การรวมโปรโตพลาสต์ (protoplast fusion) หรือการทำพันธุ์วิศวกรรม (genetic engineering)

การเลือกชิ้นส่วนพืชชนิดต่างๆ สามารถเลือกใช้ตามวัตถุประสงค์ ยกตัวอย่างเช่น การขยายพันธุ์พืชเศรษฐกิจโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถนำชิ้นส่วนต่างๆ เช่น ตายอด ตาข้าง มาขยายพันธุ์เพื่อให้ได้ในปริมาณมาก ต้นที่จะมีความสม่ำเสมอ (uniform) อายุไล่เลี่ยกัน และปลอดจากเชื้อโรค นอกจากนี้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยังสามารถใช้ได้กับพืชหลายๆ ชนิด (บุญยืน,2540)

<u>เทคนิคในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช</u>

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้กลายเป็นสิ่งสำคัญและใช้กันกว้างขวางในการแก้ปัญหา ค้นคว้าและพัฒนาการปลูกพืชบนอาหารวุ้นหรืออาหารเหลว ได้นำมาใช้ทดลองเพื่อศึกษาในทางชีวเคมีและการเจริญของพืช (ภัญชนา,2527) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้ประสบความสำเร็จต้องมีเทคนิคต่างๆ หลายประการ ตั้งแต่การเลือกชิ้นส่วนของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง การเลือกสูตรอาหารของพืชให้เหมาะสม การดูแลขวดเพาะเลี้ยง การเพิ่มจำนวน และการเก็บเกี่ยวผล (ศิวพงศ์,2541) เพื่อให้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสำเร็จจึงต้องฝึกเทคนิคต่างๆ พยายามวิเคราะห์หาจุดบกพร่อง เรียนรู้ และเข้าใจถึงสาเหตุและอาการของโรคต่างๆ ที่เกิดขึ้น จะต้องระลึกอยู่เสมอว่าอากาศเต็มไปด้วยสิ่งปนเปื้อนและเพิ่มความระมัดระวังให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้

สิ่งที่สำคัญที่สุดในเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อก็คือการทำให้ปลอดเชื้อ เทคนิคต่างๆ ล้วนเป็นวิธีการทำให้ปลอดเชื้อทั้งสิ้น ไม่ว่าจะเป็นการทำให้อาหารปลอดเชื้อหรือชิ้นเนื้อเยื่อปลอดเชื้อและเทคนิคนี้มีส่วนสำคัญยิ่งที่นำไปสู่ความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนอกเหนือไปจากสูตรอาหารที่เหมาะสม เนื่องจากว่าจุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าเนื้อเยื่อพืช ดังนั้นการมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนลงในขวดเพาะเลี้ยงเพียงตัวเดียวก็ทำให้ต้นพืชตายได้ การปนเปื้อนที่เกิดขึ้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอาจจะมีที่มาหลายทางเช่น

1. จากชิ้นพืชเอง (ทั้งภายนอกและภายใน)
2. จากอาหารเพาะเลี้ยง
3. จากวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. จากอากาศ

5. จากผู้ปฏิบัติการ

อากาศที่ผ่านเครื่องกรองเข้าไปในลามินาร์โฟลว์จะสะอาด จนทำให้บริเวณทำงานภายในตู้เนื้อเยื่อไม่มีสิ่งปนเปื้อนในขณะทำงาน นอกจากนี้ภายในตู้จะต้องมีการเช็ดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อทุกวันอุปกรณ์ทั้งหลายที่จะนำเข้าไปทำงานในตู้ถ่ายเนื้อเยื่อต้องเช็ดด้วยยาฆ่าเชื้อ (แอลกอฮอล์ 70%) ก่อนทุกครั้ง ก่อนทำงานควรเปิด UV ก่อนประมาณ 30 นาที และควรเปิดเครื่องระบายอากาศก่อนประมาณ 10 นาที และทำความสะอาดตู้ทุกครั้งด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อหลังจากทำงานเสร็จแล้ว

ถึงแม้อากาศและพื้นที่ในตู้ถ่ายเนื้อเยื่อจะสะอาดปราศจากจุลินทรีย์ แต่อุปกรณ์เครื่องมืออาจมีจุลินทรีย์อยู่ด้วย ดังนั้น ก่อนจะนำอุปกรณ์เครื่องมือมาใช้ควรจะทำความสะอาดโดยจุ่มแอลกอฮอล์ 95% ตามด้วยการลนไฟเผาเครื่องมือ (ศิวพงศ์,2541)

<u>คุณลักษณะของเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ</u> (Pierik,1987)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแตกต่างจากการขยายพันธุ์พืช[illegible]ไม่อาศัยเพศทั่วๆ ไปพอสรุปได้ดังนี้

1. เป็นการแยกชิ้นส่วนของพืชออกมาจากต้นแม่ ดังนั้นพัฒนาการ (development) ตามธรรมชาติจะสูญไป ชิ้นส่วนของพืชที่แยกมาเพาะเลี้ยงอาจจะเจริญเติบโตเป็นกลุ่มเซลล์ (callus) หรือพัฒนาไปในรูปแบบอื่นที่ไม่เหมือนเดิม อาจจะกลายเป็นอวัยวะ (organ) ต่างๆ หรือกลายเป็น เอมบริโอ (embryo) ก็ได้

2. สภาพแวดล้อมต้องเหมาะสมในการเจริญเติบโต ทั้งสภาวะทางกายภาพ อาหารและฮอร์โมน สิ่งแวดล้อมทางกายภาพ เช่น แสง อากาศ อุณหภูมิ และสภาวะความเป็นกรด ความเป็นด่าง (pH) ของอาหารจะต้องเหมาะสม นอกจากนี้สารอาหารที่พืชต้องการจะต้องมีครบถ้วน เช่น แร่ธาตุ วิตามิน น้ำตาล และฮอร์โมน เมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสมชิ้นส่วนของพืชสามารถเจริญขึ้นมาได้เต็มที่

3. การทำงานทุกอย่างอยู่ภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ ต้องปลอดจากเชื้อทุกชนิด เช่น แบคทีเรีย เห็ด รา และสาหร่าย เนื่องจากจุลินทรีย์เหล่านี้เจริญเติบโตในอาหารสังเคราะห์ได้รวดเร็วกว่าการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืช

4. เนื่องจากพัฒนาการโดยปกติของพืชถูกรบกวน ดังนั้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงสามารถจัดการให้เนื้อเยื่อเกิดการพัฒนาในรูปแบบต่างๆ ได้ เช่น บังคับให้เนื้อเยื่อพืชเจริญเป็นราก เป็นยอด เป็นแคลลัส หรือเป็นเอมบริโอ เป็นต้น

5. สามารถเพาะเลี้ยงเซลล์เดี่ยวๆ และโพรโตพลาสได้ จากสารพันธุกรรมที่มีอยู่ครบครันในเซลล์แต่ละเซลล์ ดังนั้น จากเซลล์เดี่ยวสามารถเจริญขึ้นมาเป็นพืชต้นใหม่ได้

นอกจากหลักการดังกล่าวแล้วยังมีขั้นตอนในรายละเอียดที่สำคัญและเกี่ยวข้อง คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การเตรียมพืชที่จะนำมาเป็นท่อนพันธุ์ (Explants) (ศิวพงศ์,2541)

การเลือกชิ้นส่วนพืชจะขึ้นอยู่กับชนิดของพืช และจุดประสงค์ในการศึกษา ถ้าต้องการชักนำให้เกิดต้น ส่วนของพืชที่นำมาเป็นเอกซ์แพลนต์ ได้แก่ เนื้อเยื่อเจริญ ใบ หัว เอมบริโอ อวัยวะสืบพันธุ์ โปรโตพลาสต์ (บุญยืน,2540) ตายอด ตาข้าง ข้อ และควรคำนึงถึงระยะพักตัวของต้นแม่ที่เอามาทำการเพาะเลี้ยง (รงรอง,2542) ควรคัดเลือกพืชที่มีความแข็งแรงสมบูรณ์ ปลอดโรคและควรดูจีโนไทป์ว่าเหมาะสมหรือไม่ ปัจจัยที่สำคัญของต้นพันธุ์ที่จะทำให้ประสบผลสำเร็จ มีดังต่อไปนี้

1.1 จีโนไทป์ของพืช ความสามารถในการเจริญใหม่ของพืชจะแตกต่างกันตามชนิดของพืช พืชที่เจริญในธรรมชาติได้ง่ายก็มักเจริญได้ง่ายเมื่อนำมาทำการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์

1.2 อายุของพืช พืชที่ยังอยู่ในระยะที่กำลังมีการเจริญเติบโตจะมีผลดีในการเพาะเลี้ยงมาก

1.3 อายุของเนื้อเยื่อหรืออวัยวะ เนื้อเยื่อของพืชที่ยังอ่อนอยู่เจริญได้ดีกว่าอวัยวะที่ยังอ่อนและอวัยวะที่ยังอ่อนอยู่ก็เจริญได้ดีกว่าอวัยวะที่แก่ ไพบูลย์ (2524) ได้รายงานว่าเนื้อเยื่อที่ได้จากต้นกล้าหรือส่วนของพืชที่ยังอ่อน จะใช้ได้ดีกว่าเนื้อเยื่อของพืชที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้ว

1.4 สภาวะทางสรีระวิทยา ส่วนของอวัยวะที่ไม่เกี่ยวกับการสืบพันธุ์จะเจริญในอาหารได้รวดเร็วกว่าส่วนของอวัยวะสืบพันธุ์

1.5 ความสมบูรณ์ของพืช ถ้าพืชมีสุขภาพสมบูรณ์ในขณะที่แยกเอาเอกแพลนต์ออกมาจากต้นแม่พันธุ์ การเพาะเลี้ยงในอาหารก็จะประสบผลสำเร็จ

1.6 ตำแหน่งของเอกแพลนต์ ถ้าตำแหน่งของเอกแพลนต์ที่เลือกมาเป็นลำต้นส่วนล่างๆ มักจะเจริญเป็นราก ส่วนลำต้นส่วนบนมักจะเจริญเป็นยอด

1.7 ขนาดของเอกแพลนต์ ชิ้นส่วนพืชที่มีขนาดใหญ่จะเจริญได้ดีกว่าชิ้นส่วนพืชขนาดเล็ก ส่วนของพืชที่มีอาหารสะสมและมีฮอร์โมนอยู่ด้วยจะเจริญได้รวดเร็วกว่าชิ้นเล็กที่มีอาหารสะสมน้อยกว่า แต่เนื้อเยื่อชิ้นใหญ่จะมีการปนเปื้อนสูงกว่าชิ้นเล็ก

วิธีการที่จะให้ได้ท่อนพันธุ์ที่สะอาดโดยการปลูกพืชในสภาวะแวดล้อมที่ควบคุมในเรือนเพาะชำและป้องกันไม่ให้มีแมลงศัตรูพืชมารบกวนแมลงเหล่านี้มักจะพาโรคมาด้วย ทั้งต้องมีการป้องกันเชื้อราและแบคทีเรีย ไม่รดน้ำที่ยอดของพืชและรักษาความชื้นสัมพัทธ์ในเรือนเพาะชำให้ต่ำ เชื้อราจะได้ไม่เจริญ จะได้พืชที่มีการปนเปื้อนน้อยกว่าพืชที่ปลูกกลางแจ้งและยอดที่เกิดใหม่ๆจะปนเปื้อนน้อยกว่ายอดที่เจริญมานาน จึงจะเป็นต้นพืชที่เป็นเอกแพลนต์ที่ดีที่สุด (ศิวพงศ์,2541)

2. การทำความสะอาดชิ้นส่วน (รงรอง,2542)

2.1 ควรเลือกชิ้นส่วนของพืชที่จะนำมาเพาะเลี้ยงให้สะอาดปราศจากโรค และเป็นส่วนที่ยังอ่อนอยู่ตายอดและข้อเป็นอวัยวะที่ดีที่สุด แต่ส่วนอื่นๆ เช่น ใบ ดอก ราก ก็ใช้ได้

2.2 ตัดเฉพาะชิ้นส่วนที่ต้องการ นำมาในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ล้างให้สะอาดด้วยน้ำสบู่หรือผงซักฟอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ชุบด้วยเอทธิลแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา1-2 นาที

2.4 ฟอกด้วยน้ำยาคลอร็อกซ์ 10% เป็นเวลา 15 นาที โดยมีการเขย่าอย่าสม่ำเสมอ

2.5 ตัดหรือลอกเอาส่วนที่ไม่ต้องการ เช่น กาบใบที่หุ้มตาออกอีก

2.6 ฟอกด้วยน้ำยาคลอร็อก 5% เป็นเวลา 10 นาที

2.7 นำไปล้างน้ำที่นึ่งฆ่าเชื้อโรคแล้ว 2-3ครั้ง

2.8 ใช้มีดผ่าตัดที่สะอาดโดยชุบแอลกอฮอล์ลนไฟ แล้วผ่าตัดตาบนจานแก้ว โดยทำในตู้ถ่ายเนื้อเยื่อที่มีอากาศปลอดเชื้อจุลินทรีย์

3. ธาตุอาหารและอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (รังสฤษดิ์,2540)

อาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายชนิด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมต่อชนิดของพืช พันธุ์ ตลอดจนชนิดและสภาพของชิ้นส่วนพืช (explants) ที่จะนำมาเลี้ยง อย่างไรก็ตามอาหารที่นิยมใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมากที่สุด คือ อาหารที่ดัดแปลงมาจากอาหารที่ใช้ได้ดีในการเลี้ยงกลุ่มเซลล์หรือแคลลัส ทั้งนี้เนื่องจากการเลี้ยงแคลลัส (callus culture) และเซลล์แขวนลอย (cell-suspension culture) ของพืชส่วนใหญ่เกือบทุกชนิดทำได้ง่ายกว่าการเลี้ยงจากส่วนอื่นๆ แคลลัสเหล่านี้ได้จากการเลี้ยงชิ้นส่วนพืชในอาหารกึ่งแข็งที่อย่างน้อยที่สุดประกอบด้วยเกลือของธาตุอาหารที่ต้องการครบ คือ สารประกอบอนินทรีย์ (inorganic substances) และสารประกอบอินทรีย์ (organic substances) ในปริมาณที่ค่อนข้างสูง

แม้พืชทั้งต้นจะมีความต้องการขั้นพื้นฐานในการเจริญเติบโตไม่ซับซ้อนมากนักก็ตาม แต่การนำชิ้นส่วนของพืชมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์นั้น มีความต้องการธาตุอาหารและสารบางอย่างที่จำเป็นที่มีความซับซ้อนมากกว่า และมีลักษณะเป็น seldom autotropic กล่าวคือต้องการทั้งมหธาตุ (macro nutrients) และจุลธาตุ (micro nutrients) ที่ใช้ตามปกติในการเลี้ยงพืชในสารละลาย (hydropronic culture) นอกจากนั้นยังต้องการธาตุอาหารอื่นๆ เช่น แหล่งของธาตุคาร์บอนและวิตามินอย่างมาก ปกติแล้วเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืชที่แยกมาเลี้ยงจะต้องการวิตามินและสารควบคุมการเจริญเติบโต (growth regulators) ต่างๆ ซึ่งปกติสังเคราะห์ได้เองจากส่วนหนึ่งของต้นเพื่อไปสะสมไว้ยังอีกส่วนหนึ่งของต้นพืช แล้วเคลื่อนย้ายไปยังส่วนอื่นๆ เพื่อใช้ในกระบวนการเมตาโบลิซึม อย่างไรก็ตาม ผลของแต่ละสารประกอบที่จำเป็นนี้ยังไม่ทราบชัดสมบูรณ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของสารที่ได้จากกระบวนการเมตาโบลิซึม (secondary metabolites) เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของสูตรอาหารที่ใช้มักถูกดัดแปลงไปตามความมุ่งหมายเพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของเซลล์ และการเปลี่ยนแปลงพัฒนาเพื่อกำเนิดอวัยวะ (organogenesis) และ/หรือ การกำเนิดคัพภะ (embryogenesis) จึงทำให้ยากต่อการหาข้อสรุปพื้นฐานที่สอดคล้องไปในทางเดียวกันได้โดยง่ายอย่างไรก็ตามโดยทั่วไปแล้วสามารถจำแนกสารเหล่านี้เป็นกลุ่มๆ ได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ธาตุอาหารพวกอนินทรีย์ (inorganic substances) ประกอบด้วย

   1.1 ธาตุอาหารที่ต้องการในปริมาณมาก (macro nutrients) ได้แก่ C,H,O,N,P,K,Ca,Mg และ S

   1.2 ธาตุอาหารที่ต้องการในปริมาณน้อย (micro nutrients) ได้แก่ Fe,Mn,Cu,Zn,B,Cl และ Mo

2. ธาตุอาหารพวกอินทรีย์ (organic substances) ประกอบด้วย

   2.1 วิตามิน (vitamins) ที่ใช้กันมากได้แก่ thiamine , nicrotinic acid , pyridoxine , inositol , biotin , panthothenic acid , folic acid , choline , chloride , riboflavin และ ascorbic acid

   2.2 ฮอร์โมน และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant hormones and plant growth regulators) ได้แก่

   2.2.1 สารในกลุ่มออกซิน (auxin) เช่น

   indole-3-acetic acid (IAA)

   indole butyric acid (IBA)

   napthaleneacetic acid (NAA)

   2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)

   2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T)

   2.2.2 สารในกลุ่ม ไซโตไคนิน (cytokinins) เช่น

   N_6-Benzyladenine purine (BA)

   Kinetin

   Zeatin

   N_6-isopentenyl adenine (2iP)

   2.2.3 สารควบคุมการเจริญเติบโตอื่นๆ เช่น

   gibeberellic acid (GA)

   paclobutrazol

   abscissic acid (ABA)

   daminozide

   picloram

   2.2 สารที่เป็นแหล่งคาร์บอน (carbon sources) ได้แก่ สารประกอบพวกน้ำตาลต่างๆ เช่น glucose , sucrose , fructose , succharose และ mannitol

   2.3 กรดอะมิโน (amino acids) ได้แก่ glutamine , asparagine , adenine , glycine และ casein hydrolysate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 สารประกอบอินทรีย์อื่นๆ ส่วนใหญ่ได้จากธรรมชาติ เช่น น้ำมะพร้าว (coconut milk) สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) มันฝรั่ง (potato) น้ำคั้นมะเขือเทศ (tomato luice) กล้วยหอมบด และจากมอลท์สกัด (malt extract)

แม้พืชทุกชนิดโดยปกติต้องการธาตุอาหารหลักที่เหมือนกันก็จริงแต่จะต้องการในปริมาณหรือความเข้มข้นที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่มีความต้องการที่แตกต่างกันมาก ดังนั้นการเลือกอาหารเพื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นควรคำนึงถึง

1. ชนิดและสายพันธุ์ (species and cultivars) พืชต่างชนิดและต่างสายพันธุ์ ส่วนใหญ่มักต้องการธาตุอาหารที่ไม่เหมือนกัน

2. อายุและระยะการพัฒนา (age and stage of development) แม้เป็นพืชชนิดและสายพันธุ์เดียวกัน ถ้าอายุและระยะการพัฒนาต่างกันก็อาจต้องการสารอาหารที่แตกต่างกัน

3. ชนิดของชิ้นส่วนพืช (explant materials) พืชชนิดเดียวกัน หรืออาจแม้กระทั่งต้นเดียวกัน แต่ใช้ชิ้นส่วนของพืชจากส่วนต่างๆ เช่น ใช้ส่วนยอดมาเลี้ยงจะต้องใชสูตรอาหารหนึ่งที่แตกต่างไปจากสูตรที่ใช้เลี้ยงชิ้นส่วนของรากหรือใบ

4. เป้าหมายของการเพาะเลี้ยง (target of culture) พืชชนิดเดียวกัน และชิ้นส่วนเดียวกันแต่มีเป้าหมายของการเลี้ยงที่ต่างกัน จำเป็นต้องใช้สูตรอาหารที่ต่างกันด้วย

5. สถานะของอาหาร (state of medium) ชิ้นส่วนของพืชเดียวกันที่เลี้ยงในสภาพอาหารแข็ง (solid medium) อาจได้ผลแตกต่างไปจากที่เลี้ยงในอาหารเหลว (liquid medium) หรืออาหารกึ่งแข็ง (semi-solid medium)

<u>สูตรอาหาร</u>

อาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายสูตรด้วยกัน สูตรอาหารต่างๆมักจะเรียกชื่อตามผู้ค้นคิด เช่น สูตรอาหารของ Murashige และ Skoog (MS) ซึ่งเป็นสูตรอาหารที่ Murashige และ Skoog ได้ช่วยกันคิดค้นขึ้นมาเพื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อของยาสูบ และเป็นสูตรอาหารที่นิยมใช้กันมาก (ไพบูลย์,2524) pH ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชอยู่ระหว่าง 5.6-5.8 ยกเว้นการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้ ใช้ pH 4.8-5.0 ปรับความเป็นกรดเป็นด่างโดยใช้กรดเกลือ (HCl) และโปแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) (ประศาสตร์,2536)

นอกจากสูตรอาหารที่เป็นปัจจัยสำคัญในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้สำเร็จแล้ว การพัฒนาของเนื้อเยื่อเป็นต้นหรือรากขึ้นอยู่กับความสมดุลย์ของฮอร์โมน 2 กลุ่ม คือ อ๊อกซิน (auxin) และ ไซโตไคนิน (cytokinins) (ไพบูลย์,2524)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ฮอร์โมนพืชหรือสารควบคุมการเจริญเติยโตของพืช

การเจริญเติบโตและการพัฒนาการของพืชเป็นกระบนการที่สลับซับซ้อนเพราะได้รับผลกระทบมาจากปัจจัยหลายอย่าง เช่น แสง อุณหภูมิ ความชื้น ลม แรงดึงดูดของโลก อากาศ ซึ่งสิ่งต่างๆ เหล่านี้เป็นปัจจัยภายนอก และจากสารเคมีที่มีอยู่ภายในพืชเองซึ่งจัดว่าเป็นปัจจัยภายใน ในบรรดาสารเคมีซึ่งควบคุมการเจริญเติบโตของพืชนั้นฮอร์โมนนับว่ามีบทบาทสำคัญมากในการควบคุมกิจกรรมหลายชนิดภายในพืช เช่น การเกิดราก การพักตัวของเมล็ด การติดดอกและผล การร่วงและการเสื่อม เป็นต้น (สัมพันธ์,2526)

ฮอร์โมนพืช (plant hormones) หมายถึง " อินทรีย์สาร " (ชวนพิศ,2544) เป็นสารอินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้นในปริมาณน้อย (พีรเดช,2529) ในบริเวณหนึ่งบริเวณใด แล้วส่งไปออกฤทธิ์อีกบริเวณหนึ่ง ซึ่งจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชหรืออาจยับยั้งการเจริญเติบโตแล้วแต่ชนิดของฮอร์โมนนั้น ฮอร์โมนในปัจจุบันมีการใช้หลากหลาย ซึ่งส่วนหนึ่งเป็นสารสังเคราะห์ และส่วนหนึ่งพืชจะสร้างขึ้นมาเอง (ชวนพิศ,2544) อาจหมายความรวมถึงวิตามินบางชนิด แต่ไม่รวมถึงอาหารที่พืชสร้างขึ้น (พีรเดช,2529)

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulating chemicals : PGRC) เป็นอินทรีย์สารซึ่งไม่จำกัดว่าพืชสร้างขึ้นเองหรือมนุษย์สังเคราะห์ขึ้นและถ้าใช้ในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็จะสามารถกระตุ้น ยับยั้ง หรือเปลี่ยนแปลงสภาพทางสรีรวิทยาของพืชได้ (พีรเดช,2529)

เพื่อให้เข้าใจง่ายขึ้นอาจกล่าวได้ว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช มีความหมายรวมถึงฮอร์โมนพืชโดยตรงและสารที่มนุษย์สังเคราะห์ขึ้นมาใช้ประโยชน์ในทางการเกษตรเราไม่อาจใช้ฮอร์โมนพืชได้โดยตรงเนื่องจากการสกัดสารดังกล่าวทำได้ยาก และใช้ต้นทุนสูง ดังนั้นสารที่ใช้กันอยู่ทุกวันนี้จึงเป็นสารสังเคราะห์แทบทั้งสิ้น ถ้ากล่าวให้ถูกต้องจึงควรเรียกรวมว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (พีรเดช,2529)

จากคำนิยามอาจสรุปได้ว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต้องมีคุณสมบัติ ดังนี้คือ (นภดล,2537)

1. ต้องเป็นสารอินทรีย์ซึ่งประกอบด้วย คาร์บอน (C) ไฮโดรเจน (H) ออกซิเจน (O) เป็นหลัก (KNO_3 นี้แม้จะมีคุณสมบัติเร่งการออกดอกในมะม่วงได้แต่ไม่จัดเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชเพราะเป็นสารอนินทรีย์)

2. ฮอร์โมนพืชโดยทั่วไปจะมีประสิทธิภาพที่จะก่อให้เกิดการตอบสนองจากพืชในความเข้มข้นภายในต้นพืชต่ำมากๆ คือ μM (ไมโครโมล) หรือ ppm. (ส่วนในล้านส่วน)

3. ไม่ใช่อาหาร หรือธาตุอาหารพืช เช่น น้ำตาล sucrose ไม่ถือว่าเป็นฮอร์โมนแม้ว่าจะมีการลำเลียง มีการสังเคราะห์จากพืช และก่อให้เกิดการเจริญเติบโตได้ แต่จะมีผลก็ต่อเมื่อมีความเข้มข้นค่อนข้างสูง ในระดับ 1-5 mM เช่นเดียวกับ amino acid ต่างๆกรดอินทรีย์ ธาตุอาหารต่างๆ เช่นไนโตรเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟอสฟอรัส เป็นวัตถุดิบในการสร้างอาหารและไม่เป็นสารอินทรีย์จึงไม่จัดเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชตามธรรมชาติจำแนกได้ 5 ประเภท โดยอาศัย คุณสมบัติการตอบสนองของฮอร์โมนในการสร้างกิจกรรมในทางสรีรวิทยา ฮอร์โมนพืชเหล่านี้ได้แก่ ออกซิน(Auxin) จิบเบอเรลลิน (Gibberellins) ไซโตไคนิน (Cytokinins) อินฮิบิเตอร์หรือสารยับยั้ง (Inhibitors) และเอธิลีน (Ethylene) (สัมฤทธิ์,2537) ในที่นี้จะขอกล่าวถึงเพียง 2 กลุ่มดังนี้

1. ออกซิน (Auxin)

เป็นฮอร์โมนตัวแรกที่ค้นพบในพืชว่าทำให้เกิดการโค้งงอของส่วนยอดต้นพืช เป็นกลุ่มสารที่เกี่ยวข้องกับการขยายขนาดของเซลล์ และมีการแบ่งเซลล์ ทำให้ส่วนของพืชมีการเจริญเติบโตและยืดยาวขึ้น (ชวนพิศ,2544) และยังมีผลต่อการตอบสนองต่อแรงโน้มถ่วงของโลก การควบคุมการแตกกิ่งก้าน การหลุดร่วงของใบ การเกิดและพัฒนาดอก การติดผล การเกิดราก การงอกเมล็ด หรืออาจช่วยเปลี่ยนเพศดอกของพืชบางชนิดได้ (พีรเดช,2529) เป็นต้น สำหรับผลิตผลที่เก็บเกี่ยวมาแล้วพบว่าออกซินมีบทบาทในการชะลอการชราภาพของผลผลิตต่างๆด้วย

ในการทดลองให้ออกซินกับใบและผลไม้หลายๆ ชนิดพบว่า ออกซินสามารถชะลอการชราภาพการสุกของผลผลิตเหล่านั้นได้ เช่น ให้ IAA กับกล้วยหอมที่ถูกตัดเป็นแว่น IAA สามารถชะลอการสุกได้ถึง 41 วัน หลังจากนั้นการสุกจะเกิดขึ้นได้อย่างปกติ แต่ในการทดลองให้ IAA กับผลสาลี่ยุโรปแม้จะชะลอการสุกของผล แต่จะไปกระตุ้นการเกิดเอธิลีน ซึ่งเป็นฮอร์โมนเร่งการสุกของผลไม้ ข้อมูลอาจขัดแย้งกันแต่เมื่อพิจารณาถึงระดับปริมาณออกซินในผลไม้หลายชนิดพบว่า มีอยู่สูง ในระหว่างการเจริญเติบโตและจะน้อยลงเมื่อเริ่มบริบูรณ์

สันนิษฐานกันว่า แม้ออกซินจะกระตุ้นให้มีการสร้างเอธิลีนมากขึ้น แต่ในขณะเดียวกันจะไปยับยั้งการทำงานของเอธิลีน เอธิลีนจะทำงานหรือกระตุ้นให้เกิดการสุกของผลไม้ขึ้นได้ก็ต่อเมื่อปริมาณออกซินในผลลดลงเป็นปริมาณพอสมควรแล้วเท่านั้น (จริงแท้,2541)

ส่วนใหญ่พืชสร้างออกซินอยู่ในรูปสารเคมี ได้แก่ บริเวณเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด ปลายราก และตาที่กำลังเจริญในใบอ่อน และเอ็มบริโอ เมื่อสร้างขึ้นแล้วจะลำเลียงไปยังส่วนต่างๆ ของพืชอย่างมีทิศทาง สารที่มีคุณสมบัติเป็นสารออกซินจะมีโครงสร้างคล้ายคลึงกัน 2 ประการ คือ มี Unsaturated ring และ Acidic side chain

<u>ผลของออกซินต่อการเจริญเติบโตของพืช</u>

กระตุ้นการแบ่งเซลล์ ซึ่งมีการกระตุ้นให้เกิดการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก และโปรตีน นอกจากนี้มีการเร่งการขยายขนาดของเซลล์ โดยเฉพาะขนาดของผนังเซลล์และกระตุ้นการสังเคราะห์สารที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์เพื่อนำไปสร้างผนังเซลล์ใหม่ จากการแบ่งตัวและขยายขนาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของเซลล์ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามในแต่ละส่วนของพืชจะมีการตอบสนองต่อออกซินในปริมาณที่ต่างกัน เช่น ในส่วนของรากจะตอบสนองต่อออกซินต่ำ (ชวนพิศ,2544)

ควบคุมการแตกของรากโดยจะช่วยให้กิ่งปักชำและกิ่งตอนเกิดรากได้ (ชวนพิศ,2544) ปริมาณออกซินที่เร่งการก่อกำเนิดราก ได่แก่ความเข้มข้นต่างๆกันตั้งแต่ 0.01 ถึง 20 มิลลิกัมต่อลิตรของอาหาร (อ้อมบุญ,2536)

ยับยั้งการเจริญเติบโตของตาข้างซึ่งออกซินในพืชสร้างขึ้นที่ปลายยอดและเคลื่อนที่ไปสู่ส่วนต่างๆ จะมีผลยับยั้งการเจริญของตาข้างมิให้ออกกิ่ง อาจใช้ป้องกันการร่วงของใบและผล เช่น ในมะม่วง ส้ม องุ่น เพื่อไม่ให้ร่วงก่อนการเก็บเกี่ยว เป็นการเพิ่มการติดผลและการขยายขนาดของผล นอกจากนี้ยังใช้เป็นสารกำจัดวัชพืช ออกซินในระดับความเข้มข้นสูง จะยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชโดยเฉพาะพืชใบกว้าง (ชวนพิศ,2544)

2. ไซโตไคนิน (Cytokinin)

ไซโตไคนินเป็นฮอร์โมนที่พืชสร้างขึ้นในส่วนของปลายรากเป็นส่วนใหญ่ และถูกลำเลียงไปแสดงอิทธิพลในส่วนต่างๆ ของพืช (จริงแท้,2541) ไซโตไคนินส่วนใหญ่ใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ปัจจุบันเริ่มนำมาใช้ในการแตกตาข้างของพืชอย่างกว้างขวาง (พีรเดช,2529)

<u>ผลของไซโตไคนินต่อการเจริญเติบโตของพืช</u>

ทำให้มีการแบ่งเซลล์ มีการสร้างเนื้อเยื่อพืชในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไซโตไคนิน พบว่าเนื้อเยื่อจะถูกชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์และสร้างแคลลัสขึ้นอย่างรวดเร็ว สำหรับในรากพืช พบว่าพืชต้องการสารอื่น นอกเหนือจากไซโตไคนินเข้าร่วมกระตุ้นทำให้เกิดเซลล์ในราก โดยพบว่า ไซโตไคนินจะทำงานร่วมกับออกซิน เร่งการแบ่งเซลล์ให้เพิ่มมากขึ้น และนอกจากนี้ยังเร่งการขยายตัวของเซลล์

มีการส่งเสริมการสร้างโปรตีน ไซโตไคนินสามารถดึงกรดอะมิโนเข้าใกล้ตัวแล้วสร้าง DNA ทำหน้าที่ชะลอการแก่ของใบ ยังช่วยให้ใบสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ได้เพิ่มและชะลอการเสื่อมสลายของคลอโรฟิลล์ นอกจากนี้ยังควบคุมการปิด-เปิดของปากใบ ซึ่งปากใบสามารถปิดเปิดได้ในที่มืด (ชวนพิศ,2544)

ไซโตไคนินสามารถกระตุ้นตาด้านข้างให้เจริญเติบโตได้ และยังกระตุ้นเมล็ดและตาข้างให้งอกได้ เนื่องจากปฏิกิริยาระหว่างออกซินแลไซโตไคนิน นอกจากกระตุ้นการแบ่งเซลล์แล้ว ยังกระตุ้นให้เกิดตาอีกด้วย ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพที่ปลอดเชื้อนั้น เมื่ออัตราส่วนระหว่างออกซินและไซโตไคนินไม่เหมาะสม การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อจะไม่ดีเท่าทีควร คือ ถ้ามีออกซินมากเกินไปเนื้อเยื่อจะมีรากมากขึ้นแต่มีการเจริญของตาเพียงเล็กน้อยเท่านั้น และในทางกลับกันถ้าอาหารที่ใช้เลี้ยงมีไซโตไคนินมากเกินไปเนื้อเยื่อจะมีการเจริญของตามากและของรากน้อย อัตราส่วนที่พอเหมาะระหว่างฮอร์โมนทั้งสองของเนื้อเยื่อแต่ละชนิดจะแตกต่างกันออกไป (ชวนพิศ,2544) ถ้าอัตราของสาร 2 กลุ่มนี้สมดุลย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อเยื่อจะพัฒนาเป็นทั้งตาข้างและราก (ไพบูลย์,2524) ปริมาณไซโตไคนินที่เร่งการก่อกำเนิดตาข้างหรือยอดอ่อน ได้แก่ความเข้มข้นต่างๆ กันตั้งแต่ 0.01 ถึง 20 มิลลิกรัมต่อลิตรของอาหาร (อ้อมบุญ,2536)

ไซโตไคนินช่วยรักษาพืชผักไว้ได้นานขึ้น สารพวก bedzyladenine (BA) มีความสำคัญในทางเศรษฐกิจ เนื่องจากพืชผักที่ได้รับสารนี้จะสดอยู่นาน อาจเนื่องจากสารดังกล่าวไปลดอัตราการหายใจของพืช ในการเคลื่อนย้ายอาหารในส่วนของใบพืชที่ได้รับไซโตไคนินสามารถจะดึงสารอาหารจากส่วนอื่นๆ ได้ ดังนั้น ส่วนที่ได้รับสารดังกล่าวจะมีชีวิตอยู่ได่นานกว่าส่วนอื่นๆ จึงมีการนำมาใช้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลไม้ ดอกไม้ และผักสดต่างๆ (ชวนพิศ,2544) การใช้ไซโตไคนินกับผลไม้พบว่า ไซโตไคนินสามารถชะลอการเปลี่ยนสีของกล้วยหอม(ที่ถูกตัดเป็นแว่น)ได้ แต่ไม่ชะลอลักษณะของการสุกอื่นๆ เช่น การอ่อนตัวของเนื้อ หรือการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล การศึกษาในส้มพบว่า bedzyladenine (BA) ชะลอการเปลี่ยนเป็นสีเหลืองได้ โดยไปมีผลต่อการรักษาระดับจิบเบอเรลลินและป้องกันการเพิ่มขึ้นของสารที่คล้ายกับABAภายในเนื้อเยื่อของผิวส้ม แต่ในส้มที่ยังอ่อนอยู่ bedzyladenine (BA) กลับมีผลเร่งให้สีเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลืองเร็วขึ้นอย่างไรก็ตามไซโตไคนินอาจเป็นอันตรายต่อมนุษย์ จึงไม่ปรากฏว่ามีการใช้ไซโตไคนินเพื่อชะลอการสุกหรือการชราภาพของผลิตผลสำหรับผู้บริโภค (จริงแท้,2541)

5. สภาพแวดล้อมในการเลี้ยงเนื้อเยื่อ (รงรอง,2542)

สภาพแวดล้อมที่เป็นส่วนสำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ แสงและอุณหภูมิ

โดยปกติแล้ว พืชในหลอดทดลองจะสามารถสังเคราะห์แสงได้เอง หรือบางครั้งจะไม่จำเป็นต้องสังเคราะห์แสงถ้าในอาหารเลี้ยงมีน้ำตาล ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับใช้ในการสังเคราะห์แสงอย่างไรก็ตาม แสง มีความจำเป็นต่อการสร้างรูปร่างหรืออวัยวะของพืช (morphogenesis) และการสร้างคลอโรฟิลล์ (chlorophyll formation) การใช้หลอดไฟ fluorescent จะให้แสงสีขาวมีความเข้มประมาณ 1,000-5,000 ลักซ์ และปกติพืชต้องการช่วงแสงประมาณ 8-16 ชั่วโมง โดยช่วงแสงประมาณ 16 ชั่วโมงจะกระตุ้นการผลิตยอดได้ดีกว่าช่วงแสง 8 ชั่วโมง สรุปว่าแสงมีความจำเป็นต่อขบวนการสังเคราะห์แสงและสร้างการเจริญเติบโตของลำต้น ใบ ราก (vegetative growth)

อุณหภูมิก็เกี่ยวข้องกับการเลี้ยงพืชในหลอดทดลอง พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับต้นพืชประมาณ 25-28 องศาเซลเซียส แต่มีข้อยกเว้นในบางพืช เช่นไม้ในสกุล Allium และ Narcissus ชอบอุณหภูมิต่ำประมาณ 18 องศาเซลเซียส เป็นต้น

สำหรับการขยายพืชตระกูล ZINGIBERACEAE ซึ่งได้แก่ พืชจำพวกขิง ขมิ้นชัน ข่า เป็นต้น โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้มีผู้สนใจศึกษาและวิจัยเพื่อพัฒนาในด้านต่างๆ ดังนี้

Ikeda and Michael (1989) ศึกษาการเพิ่มปริมาณของต้นขิงในสภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้สูตรอาหาร MS เติม BA 11 μM ในอาหารเหลวสามารถเพิ่มปริมาณต้นได้ถึง 10 ต้น ภายใน 49 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฐิติภาส (2530) ได้ศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว การใช้ยาปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในพืชตระกูล ZINGIBERACEAE โดยใช้ขิงเป็นพืชทดลอง และสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้นปลอดโรค โดยการใช้คลอรอกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับออโธไซด์ 50 2 เปอร์เซ็นต์ และเอทานอล 70 เปอร์เซ็นต์ ในการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว ปรากฏว่าไม่สามารถจำกัดเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในเนื้อเยื่อขิงได้ และมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนสูงถึง 98.96-100 เปอร์เซ็นต์ แต่ก็สามารถรักษาตาขิงให้หายจากโรคที่เกิดจากแบคทีเรียได้ โดยเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และ Streptomycin 500 mg/l เป็นเวลา 10 วัน นำต้นปลอดโรคที่ได้ไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสารในกลุ่ม Cytokinin คือ BA , kinetin , 2-iP แต่ละสารใช้ความเข้มข้นเหมือนกัน คือ ความเข้มข้นที่ระดับ 0 2 4 6 8 และ 10 mg/l เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ต้นที่เลี้ยงบนอาหารแข็งที่เติม BA 10 mg/l สามารถเพิ่มจำนวนต้นเฉลี่ยสูงสุด 3.6 ต้น จากต้นเดิม 1 ต้น

สิรินทร์ (2532) ศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณขิงในหลอดทดลอง โดยศึกษาเปรียบเทียบระหว่างสูตรอาหารแข็งและอาหารเหลว พบว่า ขิงที่เลี้ยงในอาหารเหลวจะให้จำนวนหน่อมากกว่าขิงที่เลี้ยงในอาหารแข็ง โดยสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุด คือสูตร MS เมื่อมีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตประเภท Cytokinin ร่วมด้วย พบว่า อาหารเหลวสูตร MS เติม BA 5 mg/l สามารถเพิ่มจำนวนหน่อได้มาก ซึ่งอัตราเพิ่มปริมาณเช่นนี้สามารถทำการผลิตขิงได้พอกับความต้องการในต้นทุนที่ต่ำได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

1. clean culture ตาขมิ้นชัน
2. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร
   - 2.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (MS,1962)
   - 2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ BA (6-benzyladeninepurine)
   - 2.3 น้ำตาลทราย
   - 2.4 ผงวุ้น
   - 2.5 น้ำกลั่น
3. เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร
   - บีกเกอร์ (beaker)
   - แท่งแก้วคนสาร
   - ช้อนตักสาร (spatule)
   - เครื่องชั่ง (balance)
   - กระบอกตวงขนาด 1,000 ml
   - ปิเปต (pipette)
   - ขวดแก้ว (bottle) สำหรับใส่อาหารพร้อมฝาปิด
   - หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave)
   - เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter)
   - เตาอุ่นความร้อนและเครื่องคน (hot plate and magnetic stirrer)
4. สารที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ คลอรอกซ์ (clorox) และสารจับใบ (teepol)
5. เครื่องมือที่ใช้ย้ายชิ้นส่วนของพืชประกอบด้วย ตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow) และ เครื่องมือที่ใช้ในตู้ปลอดเชื้อ ได้แก่ มีดผ่าตัด (knives and scalpels) ปากคีบ (forceps) ตะเกียง (turnel) จานแก้ว (Petri dish)และขวดใส่แอลกอฮอล์ 95%
6. เครื่องเขย่า (shaker) และชั้นวางขวดเนื้อเยื่อ
7. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่ควบคุมอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ให้แสงจากหลอดไฟ ฟลูออเรสเซนต์ ความเข้มแสงประมาณ 3,000 ลักซ์ (lux) นาน 16 ชั่วโมงและไม่ให้แสง 8 ชั่วโมง ควบคุมการปิด-เปิดด้วยเครื่องตั้งเวลา (timer)
8. อุปกรณ์ถ่ายภาพ กล้อง กระดาษสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมอาหาร

1.1 ชั่งสารเคมีต่างๆ ตามสูตร Murashige and Skoog (1962) โดยเตรียมเป็นสารละลายเข้มข้น (stock solution) เพื่อสะดวกในการเตรียมอาหารแต่ละครั้ง

1.2 เติมน้ำตาลในอาหารสูตร MS อัตรา 30 กรัมต่อลิตร

1.3 เติมน้ำกลั่นประมาณ 500 mg/l คนน้ำตาลให้ละลาย

1.4 ดูดสารละลายจาก stock solution ต่างๆ มารวมกัน โดยใช้ปริมาตรในแต่ละ stock ดังนี้

stock	ที่ 1	20 mg/l
stock	ที่ 2	10 mg/l
stock	ที่ 3	10 mg/l
stock	ที่ 4	10 mg/l
stock	ที่ 5	10 mg/l

1.5 เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช
ใช้ BA (6-benzyladenine) ที่มีระดับความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ ความเข้มข้น 0 , 0.25 , 0.5 , 1 , 2 , 3 และ 5 mg/l

1.6. ปรับปริมาตรสารละลายอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในแต่ละสูตรด้วยการเติมน้ำกลั่นให้ได้ครบ 1,000 ml

1.7 ปรับค่าความเป็นกรดหรือด่าง (pH) ด้วยกรดเกลือ (HCl) และโปรแตสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) ให้อยู่ในช่วง 5.8

1.8 เติมผงวุ้นปริมาตร 11 กรัมต่อลิตร นำไปต้มจนวุ้นละลาย

1.9 บรรจุอาหารลงในขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อปิดฝาให้สนิท แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็น เพื่อนำมาเลี้ยงพืชทดสอบ

2. การเตรียมน้ำยาฟอกฆ่าเชื้อ

2.1 clorox 10% ได้จากการใช้น้ำกลั่น 90 ml นึ่งฆ่าเชื้อไว้ก่อน เมื่อจะใช้ก็เติม clorox 10 ml และ teepol 1-2 หยด

3. การเตรียมชิ้นส่วนพืชและการทำความสะอาด

3.1 นำหัวขมิ้นชันมาล้างให้สะอาด จากนั้นปลอกเปลือกออกให้หมดโดยให้กระทบกระเทือนตาขมิ้นชันให้น้อยที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
100039

3.2 นำหัวขมิ้นชันมาล้างน้ำไหล (running) โดยใช้ผ้าขาวปิดปากบีกเกอร์ที่ใส่ชิ้นส่วนขมิ้นชัน แล้วเติม teepol 2-3 หยด จากนั้นเปิดน้ำไหลผ่านนานๆ เพื่อทำความสะอาดอีกครั้ง

3.3 นำชิ้นส่วนของขมิ้นชันมาฟอกฆ่าเชื้อโดยแช่ใน Clorox + teepol 1-2 หยดนาน 10 นาที

3.4 ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ ประมาณ 5 นาที

4. การเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์

4.1 นำชิ้นส่วนที่ผ่านการฟอกแล้วมาตัดเอาส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อเจริญ โดยกรณีขมิ้นชันให้ตัดเอาส่วนตา ขนาดชิ้นส่วนไม่เกิน 1 เซนติเมตร

4.2 นำมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มีความเข้มข้นของระดับฮอร์โมน BA 1 และ 3 mg/l ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ โดยใช้ 1 ชิ้นส่วน / 1 ขวด

4.3 ย้ายขมิ้นชันจากต้นหลักที่มีความเข้มข้นฮอร์โมน BA เดิม 1 mg/l และ 3 mg/l ไป เลี้ยงในอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน BA ต่างกัน ได้แก่ 0 , 0.25 , 0.5 , 1 , 2 , 3 และ 5 mg/l ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ โดยใช้ 1 ชิ้นส่วน / 1 ขวด เป็นเวลา 45 วัน แล้วบันทึกผลการเจริญเติบโต การเพิ่มจำนวน และปริมาณราก ทำการ subculture เป็นครั้งที่ 2 โดย suculture เนื้อเยื่อจากอาหารที่มี BA 0 , 0.25 , 0.5 , 1 , 2 , 3 และ 5 ลงในอาหารสูตรเดิมอีกครั้งทำสูตรละ 10 ซ้ำ โดยใช้ 1 ชิ้นส่วน / 1 ขวด เหมือนตอน subculture ครั้งแรก และทำการบันทึกผลการเจริญเติบโต การเพิ่มจำนวน และปริมาณราก อีกครั้ง เมื่อเลี้ยงไปได้ 45 วัน
(การนำชิ้นส่วนลงเลี้ยงในขวดเพาะเลี้ยงต้องทำในตู้ย้ายเนื้อเยื่อ)

5. บันทึกผลที่ได้ในแต่ละความเข้มข้นของฮอร์โมน จากนั้นจัดทำตารางเพื่อแสดงผลการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลาและสถานที่ทำการทดลอง

ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มทำการทดลอง วันที่ 15 พฤษภาคม 2546

สิ้นสุดการทดลอง วันที่ 7 พฤศจิกายน 2546

รวมเป็นระยะเวลาในการทดลอง 6 เดือน

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชไร่ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดลอง

ตอนที่ 1

จากชิ้นส่วนเริ่มต้นของขมิ้นชันที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA 1mg/l ผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเจริญขมิ้นชัน ที่เลี้ยงในอาหารสูตร **MS+BA 1 mg/l** เป็นเวลา 60 วัน ดังแสดงในภาพที่ 1 แล้วจึง subculture ลงในอาหารสูตร MS+BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเลี้ยงไปได้ 45 วัน ผลดังแสดงในตารางที่ 1 จึง subculture ครั้งที่ 2 เลี้ยงในอาหารสูตรเดิม เมื่อครบ 45 วัน วัดผลโดยเปรียบเทียบกับต้นมาตรฐานในการให้คะแนน ซึ่งมีผลแสดงตามตารางที่ 2

ตารางที่ 1 แสดงผลของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขมิ้นชัน จาก explants ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA 1 mg/l ในอาหารสูตรต่างๆครั้งแรก เมื่ออายุ 45 วัน โดย แสดงผลเป็นระดับคะแนนการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนต้น ดังนี้ (ภาพที่ 3)

1 คะแนน หมายถึง ต้นไม่สูงขึ้น

2 คะแนน หมายถึง ต้นเจริญเติบโตและสูงขึ้น

3 คะแนน หมายถึง ต้นเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเป็น 2 ต้น

4 คะแนน หมายถึง ต้นเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเป็น 3 ต้น

ความเข้มข้นของ BA (mg/l)	จำนวนซ้ำที่ (ระดับคะแนน)										รวม	ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	2	2	2	2.2	2	2.2	2	2.2	2	2.2	20.8	2.08
0.25	2	2.5	2	2.2	2.2	2	2.2	2.5	2.2	2.5	22.3	2.23
0.5	2	3	2	2.2	2	2	2.2	2.2	2.2	2.5	22.3	2.23
1	2	2	2.2	2.6	2	2.3	2.2	2.5	2.6	2.5	22.9	2.29
2	2	2.3	3	2.5	2	2	3	2.2	2.3	2.2	23.5	2.35
3	2	2.8	3.2	3.2	2.2	2	2.5	1.3	2.6	2.6	24.4	2.44
5	2.2	2.5	3	2	2.5	3	2.5	2.8	2.8	2.5	25.8	2.58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงผลของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขมิ้นชัน จาก explants ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA 1 mg/l ในอาหารสูตรต่างๆครั้งที่ 2 โดย subculture ลงในอาหารสูตรเดิม เมื่ออายุ 45 วัน หลัง subculture ครั้งที่ 2 โดย แสดงผลเป็นระดับคะแนนการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนต้น ดังนี้ (ภาพที่ 4)

1 คะแนน หมายถึง ต้นไม่สูงขึ้น

2 คะแนน หมายถึง ต้นเจริญเติบโตและสูงขึ้น

3 คะแนน หมายถึง ต้นเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเป็น 3 ต้น

4 คะแนน หมายถึง ต้นเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเป็น 4 ต้น

5 คะแนน หมายถึง ต้นเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเป็น 5 ต้น

ความเข้มข้นของ BA (mg/l)	จำนวนซ้ำที่ (ระดับคะแนน)										รวม	ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	3	3	1.8	2	1.6	3	2.3	2	3	3	24.7	2.47
0.25	3.8	2.3	2.3	1.8	1.8	1.9	4	1.5	3	2.7	25.1	2.51
0.5	3.2	1.2	1.8	2.2	1.9	3.2	4	2.4	3.4	2.4	25.7	2.57
1	2.6	1.4	4	2.5	2	2.3	4	1.6	3.7	4	28.1	2.81
2	4.3	3	4.2	4	2	2.3	4.1	2.3	3.2	3.4	32.8	3.28
3	3.3	3.2	4.1	2.6	3.4	2.9	3.2	4.2	2.2	4.6	33.7	3.37
5	2.6	2.2	2.2	4	4	3.1	5	5	3.2	3.7	35	3.5

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
เทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ อาคาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงผลของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขมิ้นชัน จาก explants ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA 1 mg/l ในอาหารสูตรต่างๆครั้งแรก เมื่ออายุ 45 วัน โดย แสดงผลเป็นระดับคะแนนการเจริญเติบโตของรากดังนี้

1 คะแนน หมายถึง ปริมาณของรากน้อยมาก

2 คะแนน หมายถึง ปริมาณของรากน้อย

3 คะแนน หมายถึง ปริมาณของรากปานกลาง

4 คะแนน หมายถึง ปริมาณของรากมาก

ความเข้มข้นของ BA (mg/l)	จำนวนซ้ำที่ (ระดับคะแนน)										รวม	ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	4	4	3	4	4	3	4	3	3	2	34	3.4
0.25	3	3	3	3	3	3	3	3	4	3	31	3.1
0.5	3	4	3	3	3	3	4	3	3	3	32	3.2
1	3	3	3	2	3	3	2	3	3	3	28	2.8
2	3	2	3	2	2	3	4	2	3	2	26	2.6
3	3	2	3	3	2	2	3	2	3	2	25	2.5
5	2	3	3	2	2	2	3	3	2	2	24	2.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 แสดงผลของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขมิ้นชัน จาก explants ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA 1 mg/l ในอาหารสูตรต่างๆครั้งที่ 2 โดย subculture ลงในอาหารสูตรเดิม เมื่ออายุ 45 วัน หลัง subculture ครั้งที่ 2 โดย แสดงผลเป็นระดับคะแนนการเจริญเติบโตของราก ดังนี้

1 คะแนน หมายถึง ปริมาณของรากน้อยมาก

2 คะแนน หมายถึง ปริมาณของรากน้อย

3 คะแนน หมายถึง ปริมาณของรากปานกลาง

4 คะแนน หมายถึง ปริมาณของรากมาก

ความเข้มข้นของ BA (mg/l)	จำนวนซ้ำที่ (ระดับคะแนน)										รวม	ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	2	2	2	1	2	2	2	1	3	1	18	1.8
0.25	2	2	2	2	3	1	2	1	2	2	19	1.9
0.5	2	2	2	2	1	1	1	3	2	2	18	1.8
1	2	2	2	2	1	2	1	2	1	2	17	1.7
2	2	2	2	1	2	1	2	2	1	2	17	1.7
3	1	2	2	1	2	1	2	2	2	1	16	1.6
5	1	2	2	1	2	1	2	1	2	1	15	1.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตอนที่ 2

จากชิ้นส่วนเริ่มต้นของขมิ้นชันที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA 3 mg/l ผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเจริญขมิ้นชัน ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA 3 mg/l เป็นเวลา 60 วัน ดังแสดงในภาพที่2 แล้วจึง subculture ลงในอาหารสูตร MS+BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เมื่อเลี้ยงไปได้ 45 วัน ดังแสดงในตารางที่ 5 จึง subculture ครั้งที่ 2 เลี้ยงในอาหารสูตรเดิม เมื่อครบ 45 วัน วัดผลโดยเปรียบเทียบกับต้นมาตรฐานในการให้คะแนน ซึ่งมีผลแสดงตามตารางที่ 6

ตารางที่ 5 แสดงผลของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขมิ้นชัน จาก explants ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA 3 mg/l ในอาหารสูตรต่างๆครั้งแรก เมื่ออายุ 45 วัน โดย แสดงผลเป็นระดับคะแนนการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนต้น ดังนี้ (ภาพที่ 5)

1 คะแนน หมายถึง ต้นไม่สูงขึ้น

2 คะแนน หมายถึง ต้นเจริญเติบโตและสูงขึ้น

3 คะแนน หมายถึง ต้นเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเป็น 2 ต้น

4 คะแนน หมายถึง ต้นเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเป็น 3 ต้น

ความเข้มข้นของ BA (mg/l)	จำนวนซ้ำที่ (ระดับคะแนน)							รวม	ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7		
0	1.5	1.5	2.2	1	1	1.3	1	9.5	1.36
0.25	2.3	1.4	2	1	1.3	1.3	1.2	10.5	1.50
0.5	1.4	1.5	2	1	1.5	2.2	1.5	11.1	1.59
1	1.4	4	1.3	2	2.3	2	1.5	14.5	2.07
2	1.9	3	3	2	2.5	2.2	2	16.6	2.37
3	2	2	3.5	2.5	2.5	2.3	2.2	17	2.43
5	2.4	4	3.5	3	3	3	2.5	21.4	3.06

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 แสดงผลของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขมิ้นชัน จาก explants ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA 3 mg/l ในอาหารสูตรต่างๆครั้งที่ 2 โดย subculture ลงในอาหารสูตรเดิม เมื่ออายุ 45 วัน หลัง subculture ครั้งที่ 2 โดย แสดงผลเป็นระดับ คะแนนการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนต้น ดังนี้ (ภาพที่ 6)

1 คะแนน หมายถึง ต้นไม่สูงขึ้น

2 คะแนน หมายถึง ต้นเจริญเติบโตและสูงขึ้น

3 คะแนน หมายถึง ต้นเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเป็น 3 ต้น

4 คะแนน หมายถึง ต้นเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเป็น 4 ต้น

5 คะแนน หมายถึง ต้นเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนเป็น 5 ต้น

ความเข้มข้นของ BA (mg/l)	จำนวนซ้ำที่ (ระดับคะแนน)										รวม	ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	2.2	2	2.1	2	2	2	2.2	1.3	2.1	4	21.9	2.19
0.25	2.6	4	3	1	2.4	2	2.6	1.4	1.6	2	22.6	2.26
0.5	2.6	2.2	1.9	2.6	2.4	2.6	4	2.3	1.6	3	25.2	2.52
1	3.2	2.3	2.5	3.1	2.5	1.9	3.8	1.9	2.2	2.9	26.3	2.63
2	3.8	2.2	2.1	2.3	2.3	2.4	3.3	3.5	2.3	3	27.2	2.72
3	2.8	3.4	2.8	3.5	2.5	2.8	2.5	2.9	2.2	2.8	28.2	2.82
5	2.9	3	2	3	1.9	2.4	2.5	5	2.8	4	29.5	2.95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 แสดงผลของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขมิ้นชัน จาก explants ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA 3 mg/l ในอาหารสูตรต่างๆครั้งแรก เมื่ออายุ 45 วัน โดย แสดงผลเป็นระดับคะแนนการเจริญเติบโตของรากดังนี้

1 คะแนน หมายถึง ปริมาณของรากน้อยมาก

2 คะแนน หมายถึง ปริมาณของรากน้อย

3 คะแนน หมายถึง ปริมาณของรากปานกลาง

4 คะแนน หมายถึง ปริมาณของรากมาก

ความเข้มข้นของ BA (mg/l)	จำนวนซ้ำที่ (ระดับคะแนน)							รวม	ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7		
0	4	3	3	2	4	3	3	22	3.14
0.25	3	2	4	4	3	2	3	21	3.00
0.5	3	3	3	4	2	3	3	21	3.00
1	3	2	3	3	3	3	3	20	2.86
2	3	2	3	3	2	2	3	18	2.57
3	3	3	2	2	3	2	3	18	2.57
5	2	3	3	2	3	3	3	19	2.71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 แสดงผลของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขมิ้นชัน จาก explants ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA 3 mg/l ในอาหารสูตรต่างๆครั้งที่ 2 โดย subculture ลงในอาหารสูตรเดิม เมื่ออายุ 45 วัน หลัง subculture ครั้งที่ 2โดย แสดงผลเป็นระดับคะแนนการเจริญเติบโตของราก ดังนี้

1 คะแนน หมายถึง ปริมาณของรากน้อยมาก

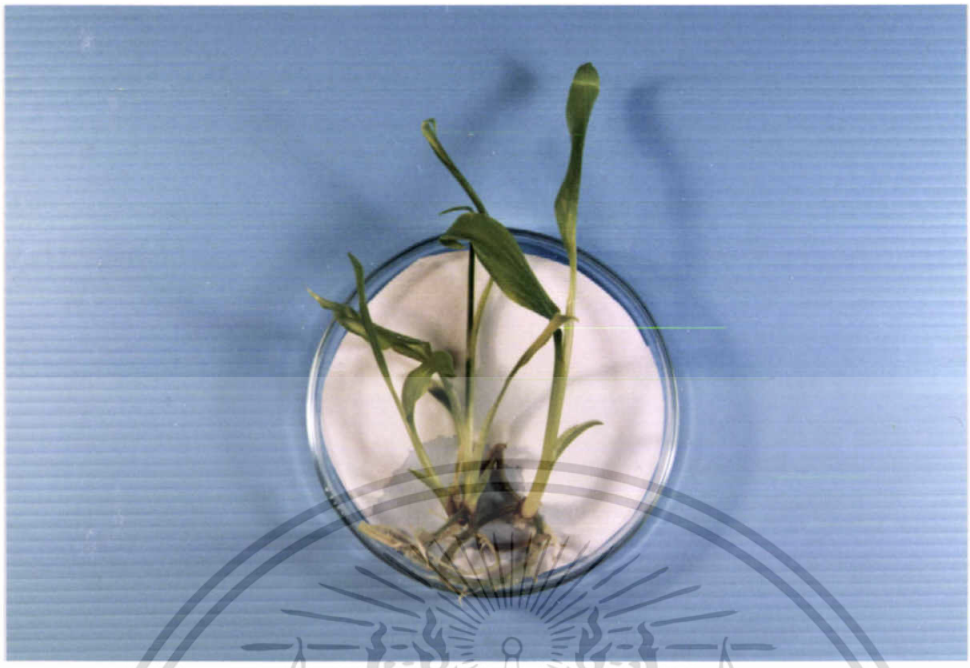
2 คะแนน หมายถึง ปริมาณของรากน้อย

3 คะแนน หมายถึง ปริมาณของรากปานกลาง

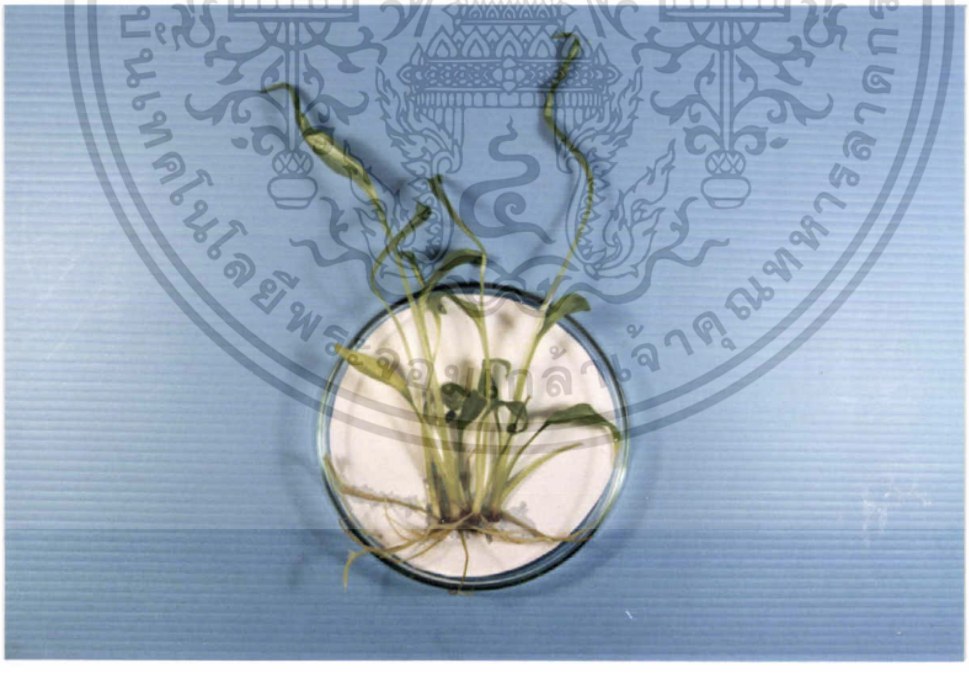
4 คะแนน หมายถึง ปริมาณของรากมาก

ความเข้มข้นของ BA (mg/l)	จำนวนซ้ำที่ (ระดับคะแนน)										รวม	ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
0	1	1	2	1	2	2	4	2	2	2	19	1.9
0.25	2	1	1	1	1	3	2	2	2	3	18	1.8
0.5	2	2	2	1	2	2	4	1	1	2	19	1.9
1	1	1	2	1	1	3	2	2	2	3	18	1.8
2	2	2	2	3	2	2	1	3	2	1	20	2
3	2	1	2	2	2	1	2	2	2	1	17	1.7
5	2	2	1	2	2	1	2	1	2	1	16	1.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



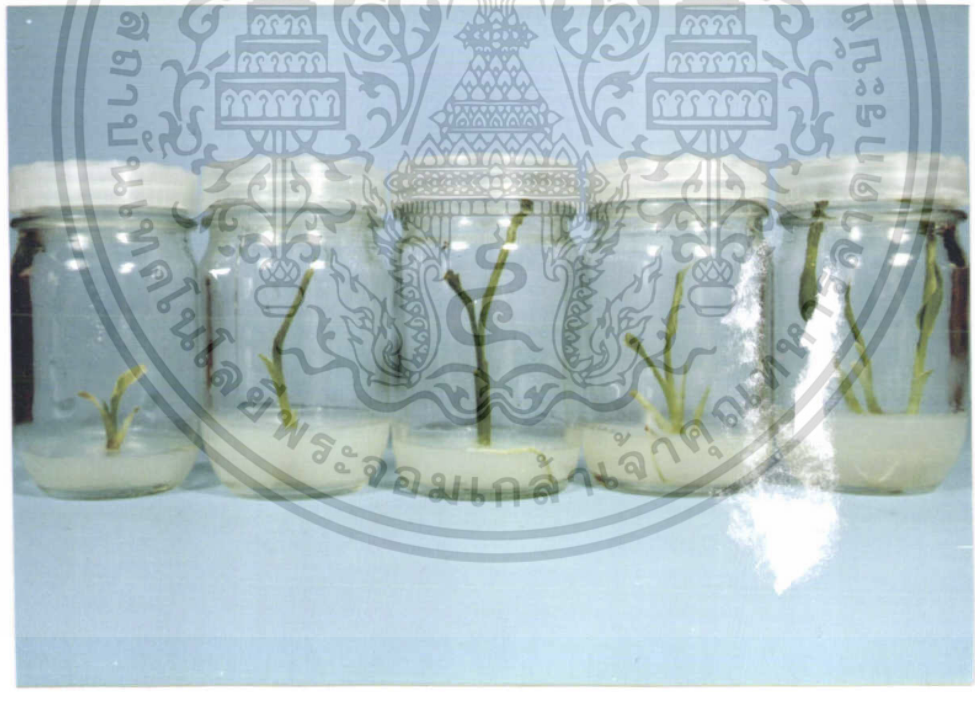
ภาพที่ 1 แสดงการเจริญเติบโตของขมิ้นชัน เมื่ออายุ 60 วัน ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA 1 mg/l



ภาพที่ 2 แสดงการเจริญเติบโตของขมิ้นชัน เมื่ออายุ 60 วัน ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA 3 mg/l

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 3 แสดงต้นมาตรฐานของ explants จากอาหารสูตร MS + BA 1 mg/l ที่ใช้ในการให้กะแนนต้นขมิ้นชัน นำมาเลี้ยงต่อในอาหารสูตร MS+BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆเมื่ออายุ 45 วัน (ตอนที่ 1)



ภาพที่ 4 แสดงต้นมาตรฐานของ explants จากอาหารสูตร MS + BA 1 mg/l ที่ใช้ในการให้กะแนนต้นขมิ้นชัน ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆหลัง Subculture ครั้งที่ 2 เมื่ออายุ 45 วัน (ตอนที่ 1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 5 แสดงต้นมาตรฐานของ explants จากอาหารสูตร MS + BA 3 mg/l ที่ใช้ในการให้กะแนนต้นขมิ้นชัน ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เมื่ออายุ 45 วัน (ตอนที่ 2)

ภาพที่ 6 แสดงต้นมาตรฐานของ explants จากอาหารสูตร MS + BA 3 mg/l ที่ใช้ในการให้กะแนนต้นขมิ้นชัน ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BAที่ระดับความเข้มข้นต่างๆหลัง Subculture ครั้งที่ 2 เมื่ออายุ 45 วัน (ตอนที่ 2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญเริ่มต้นของขมิ้นชัน ในอาหารสูตร MS + BA 1 mg/l และอาหารสูตร MS + BA 3 mg/l เป็นเวลา 60 วัน ผลที่ได้คือ เนื้อเยื่อเจริญขมิ้นชันที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA 3 mg/l เจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนต้นโดยรวมมากกว่าเนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA 1 mg/l ดังภาพที่ 1 และ 2

การที่เลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญเริ่มต้นของขมิ้นชัน ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA 3 mg/l เจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนต้นมากกว่า แสดงให้เห็นว่าเนื้อเยื่อเจริญเริ่มต้นของขมิ้นชันตอบสนองต่อการใช้ BA ที่ระดับความเข้มข้นมากกว่า

เพื่อให้ได้ผลการทดลองที่ชัดเจนยิ่งขึ้น จึงใช้ขมิ้นชันที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA 1 mg/l และต้นขมิ้นชันที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA 3 mg/l เป็น explants ในการ subculture ต่อไปในอาหารสูตร MS + BA ที่ระดับความเข้มข้น 0 , 0.25 , 0.5 , 1 , 2 , 3 และ 5 mg/l เป็นเวลา 45 วัน

พบว่าชิ้นส่วนจาก explants MS + BA 1 mg/l มีระดับคะแนนเฉลี่ยสูงสุดเป็น 2.58 ที่ระดับความเข้มข้นของ BA 5 mg/l ส่วนชิ้นส่วนจาก explants MS + BA 3 mg/l มีระดับคะแนนเฉลี่ยสูงสุดเป็น 3.06 ที่ระดับความเข้มข้นของ BA 5 mg/l เช่นเดียวกัน ทำให้ทราบว่าอาหารสูตร MS + BA ที่ระดับความเข้มข้น 5 mg/l มีการเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนต้นได้ดีที่สุดและระดับความเข้มข้นที่ให้ระดับคะแนนเฉลี่ยรองลงมาของทั้งสอง explants คือที่ระดับความเข้มข้นของ BA 3 , 2 , 1 , 0.5 , 0.25 และ 0 mg/l ตามลำดับ (ตารางที่ 1 และ 5)

เมื่อ subculture ครั้งที่ 2 เลี้ยงในอาหารสูตรเดิม 45 วัน ผลที่ได้จากการ subculture ของครั้งที่ 2 คือ explants จากอาหารสูตร MS + BA 1 mg/l และ explants จากอาหารสูตร MS + BA 3 mg/l มีระดับคะแนนเฉลี่ยเป็น 3.5 และ 2.95 ตามลำดับ ซึ่งก็ยังคงไม่แตกต่างไปจากการ subculture ครั้งแรกนั้นก็คือ ต้นขมิ้นชันที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA 5 mg/l เพิ่มจำนวนต้นมากที่สุด

แต่ในทางกลับกันที่ระดับความเข้มข้นของ BA ยิ่งมากขึ้นปริมาณรากกลับมีปริมาณน้อยลง คือ จากการ subculture ทั้ง 2 ครั้ง ที่ระดับความเข้มข้นของ BA 5 mg/l explants จากอาหารสูตร MS + BA 1 mg/l มีคะแนนเฉลี่ยของครั้งที่ 1 และ 2 เป็น 2.4 และ 2.71 ตามลำดับ และ explants จากอาหารสูตร MS + BA 3 mg/l มีคะแนนเฉลี่ยของครั้งที่ 1 และ 2 เป็น 1.5 และ 1.6 ตามลำดับ ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของ BA 0 mg/l explants จากอาหารสูตร MS + BA 3 mg/l มีคะแนนเฉลี่ยของครั้งที่ 1 และ 2 เป็น 3.4 และ 1.8 ตามลำดับ และ explants จากอาหารสูตร MS + BA 3 mg/l มีคะแนนเฉลี่ยของครั้งที่ 1 และ 2 เป็น 3.4 และ 1.9 ตามลำดับ

จากการทดลองดังกล่าวพบว่าการเปลี่ยนแปลงของระดับฮอร์โมน BA ที่เพิ่มขึ้นในต้นขมิ้นชันทำให้ความสมดุลย์ระหว่างฮอร์โมนออกซินและฮอร์โมนไซโตไคนินในต้นพืชเสียไป พืชจึงแสดงออกในด้านการตอบสนองต่อคุณสมบัติของฮอร์โมนที่เพิ่มขึ้น (ไพบูลย์,2524) ดังค่าเฉลี่ยของคะแนน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ BA เพิ่ม แต่คะแนนการเจริญเติบโต และค่าเฉลี่ยในแต่ละความเข้มข้นมีค่าใกล้เคียงกัน อาจเกิดจากขณะทำการ subculture ผู้ทดลองได้ตัดรากของขมิ้นชันแล้วมีชิ้นส่วนของหัวขมิ้นชันซึ่งเป็นจุดเจริญติดไปด้วย ส่งผลให้จุดเจริญเหลือชิ้นเล็กลงจึงเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนต้นได้ช้า คะแนนที่ได้จึงมีค่าใกล้เคียงและไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข **"การวิจัยในรายงานประจำปี 2534".**ห้างหุ้นส่วนจำกัด อรุณการพิมพ์ . กรุงเทพฯ.

จริงแท้ ศิริพานิชย์. 2541. **สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้.** ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. วิทยาเขตกำแพงแสน.

ชวนพิศ แดงสวัสดิ์. 2544. **สรีรวิทยาของพืช.** สถาบันราชภัฏเพชรบูรณ์.

ฐิติภาส ชิตโชติ. 2530. **การผลิตพันธุ์ขิงปลอดโรคโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.** ปัญหาพิเศษ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ถนอมศรี วงศ์รัตนาสถิตย์. 2538. **เอกลักษณ์สมุนไพร.** ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

นพดล จรัสสัมฤทธิ์. 2537. **ฮอร์โมนพืชและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช.** สำนักพิมพ์รั้วเขียว. กรุงเทพฯ.

เนาวรัตน์ ปานแย้ม. **สรีรวิทยาของพืช เล่ม 1.** คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าวิทยาเขต เจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง.

บุญยืน กิจวิจารณ์. 2540. **เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.** ภาควิชาชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2536. **เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.** ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปัจจุบัน เหมหงษา.2541. **สมุนไพรในงานสาธารณสุขมูลฐาน.**สำนักงานคณะกรรมการสาธารณะสุขมูลฐาน.กระทรวงสาธารณสุข.กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พร้อมจิต ศรลัมพ์. 2532. **สมุนไพรและยาที่ควรรู้**. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

พร้อมจิต ศรลัมพ์.2537. **สมุนไพรกับโรคระบบทางเดินอาหาร**. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

พีรเดช ทองอำไพ. 2529. **ฮอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์**. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ไพบูลย์ กวินเลิศวัฒนา. 2524. **หลักการและวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ภักดี โพธิศิริ. 2540. **สมุนไพรกับผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพและเครื่องสำอาง**. ในรายงานการสัมมนาทางวิชาการเรื่อง สมุนไพรไทย. คณะกรรมการสภาวิจัยแห่งชาติ สาขาวิทยาศาสตร์เคมีและเภสัช. มหาวิทยาลัยขอนแก่นและสมาคมสมุนไพรแห่งประเทศไทย.

ภัญชนา มีแก้วคุญชร. 2527. **การขยายพันธุ์พืช**. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า วิทยาเขตเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง.

รงรอง วิเศษสุวรรณ. 2542. **เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. ในเอกสารประกอบการฝึกอบรมทางวิชาการ เรื่องเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขั้นพื้นฐาน. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. นครปฐม.

รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล. 2536. **สมุนไพรรักษาโรคเรื้อรัง**. ภาควิชาเภสัชพฤกษศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

รังสฤษฏ์ กาวีต๊ะ. 2540. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักการและเทคนิค**. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วีณา เชิดบุญชาติ. 2543. **ปลูกผักไทยได้ทั้งอาหารและยา**. บริษัท อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด. กรุงเทพฯ.

วันดี กฤษณพันธ์. 2536. **ยาและผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ**. ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มหาวิทยาลัยมหิดล.

ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. 2541. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

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

สัมพันธ์ คัมภิรานนท์. 2526. **ฮอร์โมนพืช**. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สัมพันธ์ คัมภิรานนท์. 2529. **หลักสรีรวิทยาของพืช**. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สัมฤทธิ์ เฟื่องจันทร์. 2537. **สรีรวิทยาพืชสวน**. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อ้อมบุญ ล้วนรัตน์. 2536. **การสกัดและตรวจสอบสารสำคัญจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ**. ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

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

Pierik, R. L. M., 1987. **In Vitro Culture of Higher Plants**, Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht.185:3.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้