

ใบรับรองปัญหาพิเศษปริญญาตรี  
ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไพล  
Medium for Propagation of *Zingiber cassumunar* Roxb.

โดย  
นางสาวพิมพ์  
นางสาวสุพรรณิ  
ศรีจันทร์แสง  
เพ็ญสาร

ได้รับความเห็นชอบโดย



(อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนพงศ์)

อาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว



(รศ.ดร. สมยศ เดชกริตนมงคล)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่ ๙ เดือน พ.ค. พ.ศ. 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี



T100542

เรื่อง

สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของไพล

Medium for Propagation of *Zingiber cassumunar* Roxb.

โดย

นางสาวพิมพ์ ศรีจันทร์แสง

นางสาวสุพรรณิ เพ็ญสาร

สาขาวิชาพืชไร่

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ป.พ.

พ.ศ. ๒๕๔๖

๒๕๔๖

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์วิรัช ลิ้มกาญจนพงศ์

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน..... 100542

วันเดือนปี..... ๒๕๔๖

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พุทธศักราช ๒๕๔๖

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## คำนิยม

การทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ได้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี คณะผู้จัดทำต้องขอกราบขอบพระคุณ ท่านอาจารย์วิรัช ลิ้มกาญจนพงศ อาจารย์ที่ปรึกษาที่กรุณาให้คำแนะนำช่วยเหลือทั้งในด้านความรู้ หนังสือสำหรับค้นคว้า อุปกรณ์ต่างๆรวมทั้งสถานที่ทำการศึกษาทดลองและยังช่วยแก้ปัญหาต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการทดลองตลอดเวลา

กราบขอบพระคุณคุณแม่ที่ให้การสนับสนุนในทุกๆ ด้านไม่ว่าจะเป็นค่าใช้จ่าย หรือ ความสะดวกในการเดินทางไปศึกษาหาข้อมูลหรือวัสดุนอกสถานที่

ขอบพระคุณ พี่อ้อย ที่ช่วยเหลือทุกๆ ด้านตั้งแต่การเตรียมอาหารจนถึงขั้นตอนการ เพาะเลี้ยงเนื้อเชื้อ

ขอขอบคุณเพื่อนๆ และน้อง ๆ ทุกคนที่มาอยู่เป็นเพื่อนเวลาทำ lab หลายครั้ง

นางสาวพิมล ศรีจันทร์แสง

นางสาวสุพรรณิ เพ็ญสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อเรื่อง           สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของไหล  
Medium for Propagation of *Zingiber cassumunar* Roxb.  
โดย                 นางสาวพิมพ์ ศรีจันทร์แสง  
                          นางสาวสุพรรณิ เพ็ญสาร  
                          สาขาวิชาพืชไร่ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช  
                          คณะเทคโนโลยีการเกษตร  
อาจารย์           อาจารย์วิรัช ลิ้มกาญจนพงศ

#### บทคัดย่อ

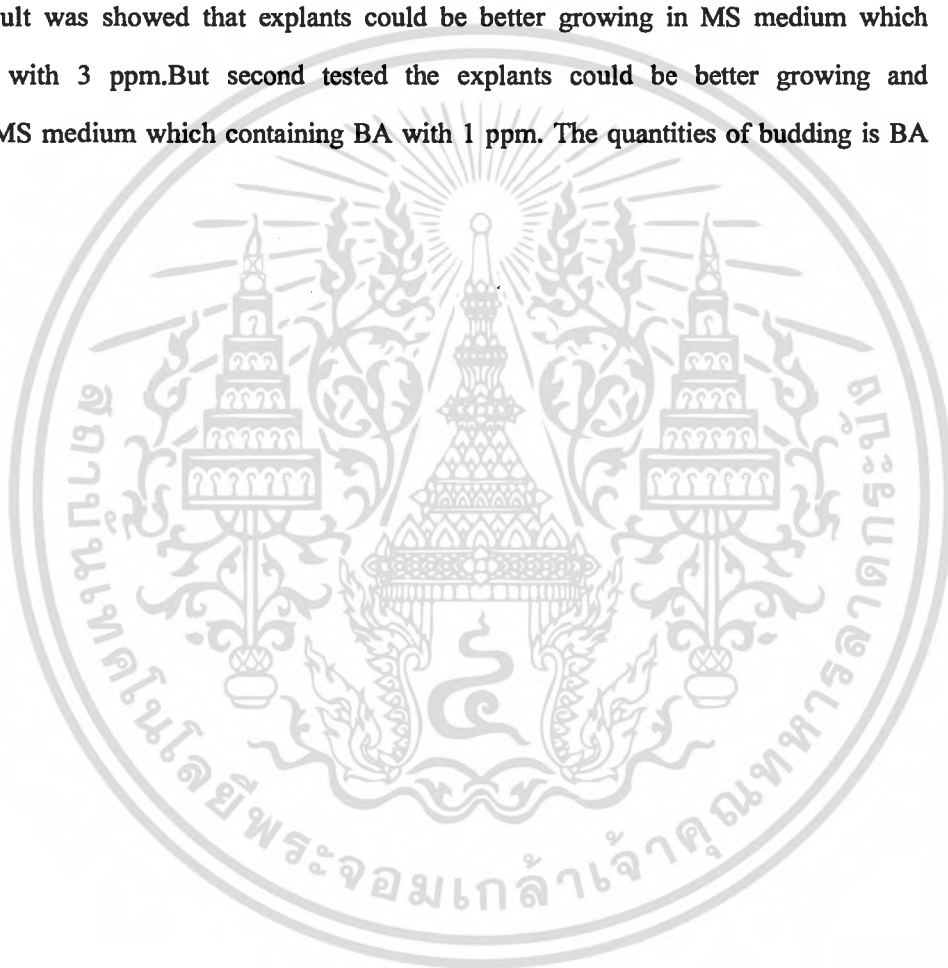
การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของไหล โดยดำเนินการทดลองที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สาขาวิชาไร่ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ระหว่างเดือนธันวาคม พ.ศ. 2545 ถึง ธันวาคม พ.ศ. 2546 การทดลองนี้ใช้ explant เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ใส่ฮอร์โมน BA ต่างกัน คือ 0 , 1 , 2 , 3 , 4 และ 5 ppm เป็นเวลา 45 วัน

ผลปรากฏว่า ไพลเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS + BA ที่มีระดับความเข้มข้นฮอร์โมน BA ต่าง ๆ จะเห็นได้ว่าการทดลองครั้งที่ 1 ไพลมีความแข็งแรงดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้นฮอร์โมน BA 3 ppm ถ้าดูถึงการแตกหน่อจะพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน BA 5 ppm จะมีการแตกหน่อที่ดีที่สุด แต่ในการทดลองครั้งที่ 2 ไพลมีความแข็งแรงที่ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้นฮอร์โมน BA 1 ppm และการแตกหน่อที่ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน BA 5 ppm

## ABSTRACT

A study the medium for propagation of *Zingiber cassumunar* Roxb was tested at tissue culture laboralory , The Major of Agronomy , Department of Technology of Plant Production Technology , Faculty of Agricultural Technology , King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang between December 2002 to December 2003. The experiment was tested explants were cultured in MS which containing BA with 0 , 1 , 2 , 3 , 4 and 5 ppm ratio only for 45 day.

The result was showed that explants could be better growing in MS medium which containing BA with 3 ppm. But second tested the explants could be better growing and propagation in MS medium which containing BA with 1 ppm. The quantities of budding is BA with 5 ppm.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	ก
สารบัญตารางภาคผนวก	ข
สารบัญภาพ	ค
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	20
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	24
สรุปผลการทดลอง	32
เอกสารอ้างอิง	33
ภาคผนวก	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 แสดงการแตกหน่อของไพล จาก explant ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA ที่ระดับความเข้มข้นฮอร์โมน BA เท่ากับ 0 , 1 , 2 , 3 , 4 และ 5 ppm ในการทดลองครั้งแรก เมื่ออายุครบ 45 วัน โดยแสดงผลเป็นระดับคะแนนการแตกหน่อของไพล

ตารางที่ 2 แสดงผลการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไพล จาก explant ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA ที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน BA เท่ากับ 0 , 1 , 2 , 3 , 4 และ 5 ppm เมื่ออายุครบ 45 วัน ในการทดลองครั้งแรก โดยแสดงผลเป็นระดับคะแนนการเจริญเติบโตและความแข็งแรงของต้นไพล

ตารางที่ 3 แสดงการแตกหน่อของไพล จาก explant ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA ที่ระดับความเข้มข้นฮอร์โมน BA เท่ากับ 0 , 1 , 2 , 3 , 4 และ 5 ppm ในการทดลองครั้งที่ 2 เมื่ออายุครบ 45 วัน โดยแสดงผลเป็นระดับคะแนนการแตกหน่อของไพล

ตารางที่ 4 แสดงผลการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไพล จาก explant ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA ที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน BA เท่ากับ 0 , 1 , 2 , 3 , 4 และ 5 ppm ในการทดลองครั้งที่ 2 เมื่ออายุครบ 45 วัน โดยแสดงผลเป็นระดับคะแนนการเจริญเติบโตและความแข็งแรงของต้นไพล

## สารบัญตารางภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 แสดงการเตรียมสารละลายเข้มข้นของอาหารสูตร MS ต่อปริมาตร 1 ลิตร (1000 ml)

ตารางผนวกที่ 2 แสดง Inorganic macronutrient (mg/l) ของอาหารสูตร Murashing and Skoog (1962)

ตารางผนวกที่ 3 แสดง Inorganic micronutrient (mg/l) ของอาหารสูตร Murashing and Skoog (1962)

ตารางผนวกที่ 4 แสดง Organic constituents (mg/l) ของอาหารสูตร Murashing and Skoog (1962)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญภาพ

ภาพที่ 1 แสดงภาพรวมเกณฑ์การให้คะแนนการเจริญเติบโตและความแข็งแรงของไพลิน  
อาหารสูตร MS + BA เรียงจากซ้ายไปขวา (การทดลองครั้งแรก)

ภาพที่ 2 แสดงระดับคะแนนเท่ากับ 1 ที่ไพลไม่มีการเจริญเติบโต

ภาพที่ 3 แสดงระดับคะแนนเท่ากับ 2 ที่ไพลการเจริญเติบโตปานกลาง

ภาพที่ 4 แสดงระดับคะแนนเท่ากับ 3 ที่ไพลการเจริญเติบโตดี

ภาพที่ 5 แสดงระดับคะแนนเท่ากับ 4 ที่ไพลการเจริญเติบโตดีมาก

ภาพที่ 6 แสดงเกณฑ์การให้คะแนนการเจริญเติบโตและความแข็งแรงของไพลินอาหารสูตร  
MS + BA เรียงจากซ้ายไปขวา (การทดลองครั้งที่ 2 )

ภาพที่ 7 แสดงระดับคะแนนเท่ากับ 1 ที่ไพลไม่มีการเจริญเติบโต

ภาพที่ 8 แสดงระดับคะแนนเท่ากับ 2 ที่ไพลการเจริญเติบโตปานกลาง

ภาพที่ 9 แสดงระดับคะแนนเท่ากับ 3 ที่ไพลการเจริญเติบโตดี

ภาพที่ 10 แสดงระดับคะแนนเท่ากับ 4 ที่ไพลการเจริญเติบโตดีมาก

## คำนำ

ไพลเป็นพืชตระกูลขิงซึ่งมีความสำคัญในด้านการแพทย์แผนไทย และมีความต้องการทางตลาดสูงมาก โดยเฉพาะการนำเอาเหง้าไพลไปสกัดเอาน้ำมันหอมระเหย ( aromatic oil ) , Alflabene , Curcumin , Vanillin มาใช้เป็นยา บรรเทาอาการเจ็บปวดขดยอก ฟกช้ำ ขับเลือดเสีย และใช้เป็นยาหลังคลอดบุตร ( โครงการสมุนไพรเพื่อการพึ่งตนเอง )

ไพลขยายพันธุ์โดยการใช้ส่วนของเหง้า พบว่าไพลที่เก็บแต่ละที่มีสารออกฤทธิ์ที่ต่างกัน นอกจากแหล่งปลูก สภาพพื้นที่ปลูก วิธีการปลูก วิธีการดูแลรักษา อายุการและวิธีการเก็บจะทำให้ได้สารออกฤทธิ์ที่ต่างกันอย่างแล้ว สายพันธุ์ ( clone ) ที่ใช้ยังให้สารออกฤทธิ์ที่ต่างกันอย่าง เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จึงเป็นแนวทางที่ใช้ในการขยายพันธุ์ ( clone ) ไพลที่คัดเลือกแล้วว่าให้สารออกฤทธิ์สูง มีการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตสูง และยังหลีกเลี่ยงโรคที่อาจติดมาจากการขยายพันธุ์ด้วยเหง้ามาอีกด้วย

## วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาถึงสูตรอาหารที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์โพลีให้ได้ต้นจำนวนมาก โดยใช้สูตรอาหารที่มีความเข้มข้นของฮอร์โมนต่างกัน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ตรวจเอกสาร

### ไพล (โครงการสมุนไพรเพื่อการพึ่งตนเอง)

ชื่อท้องถิ่น : ปลูกอย ปลูกย ( ภาคเหนือ ) ไพล, ว่านไฟ ( ภาคกลาง ) มันสะล่าง ( เจียวกู - แม่ฮ่องสอน )

ชื่อสามัญ -

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Zingiber cassumunar* Roxb.

วงศ์ : Zingiberaceae

ส่วนที่ใช้ เหนียงสดที่แก่จัด

สารที่พบ น้ำมันหอมระเหย ( aromatic oil ) , Alflabene , Curcumin , Vanillin

#### ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ไพล เป็นไม้ล้มลุกประเภทเหง้าในฤดูร้อนและฤดูหนาว

ราก เป็นระบบรากฝอย ( fibrous root system )

ลำต้น มีเหง้าขนาดใหญ่อยู่ใต้ดินแบบ rhizome เจริญเติบโตขนานไปกับพื้นดินทำหน้าที่สะสมอาหาร เหง้ามีลักษณะเป็นข้อๆ ด้านบนจะยังคงลำต้นเทียมที่เหี่ยวแห้งไป แต่เนื้อภายในเหง้าจะเป็นสีเขียวหรือสีขาวแกมเหลือง มีกลิ่นหอมฉะเพาะตัว ปลายสุดของยอดจะเป็นลำต้นเทียมอยู่บนดินสูงเหนือพื้นดินประมาณ 80-150 ซม. ซึ่งลำต้นเทียมมีกาบใบหรือโคนใบหุ้มไว้

ใบ เป็นใบเดี่ยว รูปปลายหอก ( lanceolate ) ใบออกสลับกัน ( alternate ) เป็นสองแถว เนื้อใบค่อนข้างบางแต่มีลักษณะเนื้อละเอียด ขอบใบห้อยลู่ลง ปลายใบสอบ โคนใบสอบ แฉก ก้านใบมี ligule

ดอก เป็นช่อรูปเห็ดหรือรูปกระบองโบราณ ซึ่งแทงจากเหง้าใต้ดินชูก้านสูงขึ้นมาประมาณ 20-30 ซม. ทุกดอกจะมีก้านสีเขียวปนแดงเรื่อๆ รูปโค้งห่อรองรับไว้ กาบจะปิดแน่นในขณะที่ดอกยังอ่อนอยู่และจะขยายเปิดอ้าออกให้เห็นดอกในภายหลัง กลีบดอกและกลีบรองดอกจะมีจำนวนอย่างละ 3 กลีบ เกสรตัวผู้มี 6 อัน ดอกแต่ละดอกจะเป็น bisexual

ผล เป็นแบบ capsule เมล็ดมีลักษณะกลมแข็ง เส้นผ่านศูนย์กลางผลประมาณ 1-1.5 ซม.

#### สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม

ไพล เป็นพืชที่ชอบดินเหนียวปนทราย ดินมีอินทรีย์วัตถุสูง มีการระบายน้ำดี ไม่ชอบสภาพที่น้ำขังแฉะ ต้องการแสงแดดพอสมควร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## วิธีการปลูก

ใช้เหง้าเป็นส่วนขยายพันธุ์ ทำการเตรียมดินให้ร่วนโปร่งซุย แล้วขุดหลุมให้ลึกประมาณ 25-30 ซม. ระยะปลูกระหว่างต้น X ระหว่างแถวประมาณ 50 X 60-75 ซม. ตากดินไว้ประมาณ 7-15 วัน เพื่อฆ่าเชื้อโรคที่อาจติดอยู่ในดิน จากนั้นให้นำปุ๋ยหมักหรือปุ๋ยคอกใส่ผสมลงไปดิน เพื่อช่วยให้ดินร่วนและรักษาความชุ่มชื้นในดินให้ดีขึ้น นำแ่งไฟลที่แก่จัดมาตัดเป็นท่อนๆ นำปูนแดง ( ปูนกินหมาก ) ทาบริเวณรอยแผลที่ตัด ทิ้งไว้ให้แห้งแล้วจึงนำลงในแปลงที่เตรียมไว้ ใช้ฟางแห้งคลุมดินเพื่อช่วยรักษาความชุ่มชื้นและป้องกันวัชพืช รดน้ำให้พืชที่ปลูก ในการปลูกไฟลอาจจะเพาะในถุงพลาสติกก่อนในกระบะทรายแล้วค่อยย้ายไปปลูกแปลงปลูกก็ได้หลังจากที่พืชแทงยอดแตกใบประมาณ 2-3 ใบ

## การปฏิบัติดูแลรักษา

1. การให้น้ำ ในระยะแรกที่ปลูกต้องระวังอย่าให้พืชขาดน้ำ รดน้ำอย่างสม่ำเสมอ โดยเฉพาะในช่วงที่ฝนไม่ตกจนกว่าพืชจะตั้งตัวได้ ต่อจากนั้นระยะเวลาให้น้ำแก่พืชสามารถกระทำให้ห่างขึ้นได้
2. การใส่ปุ๋ย หลังจากปลูกไฟลได้ประมาณ 6 สัปดาห์ควรบำรุงพืชด้วยปุ๋ยเคมีที่มีธาตุไนโตรเจนสูง เพื่อบำรุงต้นและใบ และหลังจากนั้นควรใส่ปุ๋ยที่มีธาตุโปตัสเซียม เพื่อบำรุงเหง้า
3. การป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูพืช ไฟลเป็นพืชที่ไม่ค่อยมีศัตรูพืชรบกวน ยกเว้นแต่ในสภาพของดินปลูกชื้นแฉะและไม่มีการระบายน้ำหรือการระบายน้ำไม่ดีก็จะพบว่าเหง้าเน่าเสียหาย

## การเก็บเกี่ยว

จะเก็บเกี่ยวไฟลได้หลังจากที่ปลูกได้นานประมาณ 8 เดือนขึ้นไป ช่วงที่ไฟลมีคุณภาพสูงเพื่อใช้เป็นสมุนไพรคือควรเก็บเหง้าในช่วงฤดูแล้งในขณะที่ลำต้นเหนือดินตาย โดยใช้จอบหรือเสียมขุดเหง้าที่มีลักษณะแก่จัด ต้องระวังระวังไม่ให้เกิดรอยแผลที่เหง้า จากนั้นให้ทำความสะอาดเอาดินออกจากเหง้าเพื่อเตรียมไว้จำหน่ายต่อไป

**ไฟลสรรพคุณที่เด่นๆ** คือ รักษาแผลบรรเทาอาการเข็ดขจัดขอก ฟกช้ำ ขับเลือดเสีย และมักใช้เป็นยาหลังคลอดบุตร หัวไฟลที่จะนำมารักษาควรเป็นหัวที่สดๆ และแก่จัด เนื้อไฟลควรเป็นสีเหลืองเข้ม เพราะจะได้ไฟลที่มีคุณภาพสูง

การนําน้ำมันไฟลรักษาอาการเข็ดขจัดขอก แผลช้ำ ข้อบวมและเหน็บชา ให้นำหัวไฟลสดหนัก 2 ก.ก. นําน้ำมันมะพร้าวหนัก 1 ก.ก. การบูรหนัก 15 กรัม ดอกกานพลูหนัก 15 กรัม มีวิธีทำไม่ยากคือ นำน้ำมันมะพร้าวเทลงในกระทะตั้งไฟ แล้วหั่นไฟลให้เป็นชิ้นบางๆ พอน้ำ

ไม่ว่ากรรมใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร้อนก็เอาไฟลงไปที่ทอดในน้ำมัน ลดไฟลงในระดับปานกลาง ทอดจนไฟกรอบเป็นสีน้ำตาลแก่และน้ำมันเป็นสีเหลือง แต่อย่าให้ไหม้ ช้อนเอาชิ้นไฟล่ออก ตักน้ำมันให้ละเอียดนำไปทอดในน้ำมันต่อและให้ใช้ไฟอ่อนๆ เพื่อกันไม่ให้ไขมันในกานพลูระเหยไป ทอดพอประมาณ แล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง พอน้ำมันอุ่นๆ ผสมการบูรลงไปในน้ำมัน แล้วเทลงในน้ำมันที่มีภาชนะที่ปิดได้เพื่อป้องกันการระเหย เมื่อน้ำมันเย็นดีคนให้เข้ากัน

วิธีการใช้สำหรับแผลชำ ให้ทาน้ำมันเพียงบางๆ วันละ 2 ครั้ง เช้าและเย็น ก่อนที่ท่านจะทาน้ำมันควรล้างแผลให้สะอาดเสียก่อน

เคล็ด - ชำบวม ให้ทาน้ำมันให้ทั่วบริเวณที่มีอาการ และใช้ฝ่ามือนวดเบาๆ และควรทาน้ำมันวันละ 3-4 ครั้ง

ข้อบวมหรือเหน็บชา ให้ท่านทาน้ำมันให้โชกแล้วใช้ถุงร้อนประคบบริเวณที่บวมวันละ 2 ครั้ง เช้าและเย็นหรือเวลาที่มีอาการปวดชา

**ตัวยาที่นำมาผสมกับไฟลที่ควรรู้**

1. การบูรใช้เป็นสารกันบูด เพราะมีฤทธิ์ฆ่าเชื้ออ่อนๆ ทำให้ยาไม่เสีย และการบูรสามารถแก้เคล็ดขัดยอกได้เป็นอย่างดี
  2. ดอกกานพลู มีน้ำมันที่มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ ระงับอาการปวดและแก้เคล็ดขัดยอก กานพลูจึงช่วยเสริมฤทธิ์น้ำมันไฟลให้รักษาแผลและแก้เคล็ดขัดยอกได้เป็นอย่างดี
  3. น้ำมันมะพร้าว มีรสมันช่วยบำรุงไขข้อ กระดูก เส้นเอ็น ช่วยบำรุงผิวให้ชุ่มชื้นอยู่เสมอ นอกจากนี้ น้ำมันมะพร้าวสามารถซึมเข้าสู่ผิวหนัง จึงช่วยนำพายาให้ซึมเข้าไปด้วย ทำให้ยาออกฤทธิ์ได้ในส่วนที่ลึกลงไป ในผิวหนังและน้ำมันมะพร้าวแห้งช้า จึงไม่ต้องทาบ่อยครั้ง แต่ น้ำมันมะพร้าวมีข้อเสียคือ เหนียวเหนอะหนะทำให้เปื้อนเสื้อผ้า และก้ซ้กออกลำบากเสียด้วยอีกทั้งยังมีกลิ่นหืนอีก
  4. น้ำมันไฟล ใช้ได้ดีในแผลที่เพิ่งเป็น ถ้าเป็นนานหรือแผลเป็นหนองจะได้ผลที่ช้า
- ไฟลมีสรรพคุณมากมายในการรักษาอาการต่างๆ ให้หายไปได้ง่าย และในการปรุงยารักษา ก็ไม่ยากสักเท่าไรหรอกกับไฟลก็จะหายง่ายจึงสะดวกต่อการนำมาปรุงเพื่อเป็นยาที่มีสรรพคุณที่ดี

**การใช้ประโยชน์**

**สรรพคุณทางยา**

หัวหรือเหง้า เป็นยาแก้กระเพาะอาหารเป็นพิษ โดยใช้หัวว่านเคี้ยวกินแก้ลำไส้อาหารเป็นแผล โดยการใช้ไฟลคดค้างให้สะอาดแล้วนำไปต้มให้คนใช้ดื่ม นอกจากนี้ยังแก้อาการชำทั้งตัวอาการบวมและเป็นยาบำรุงกำลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สรรพคุณอื่นๆ

หัวหรือเหง้า ใช้หัวว่านไพลตำกับว่านเหล็กไหล สองอย่างนำมาเสกคาถา และกินเข้าไปจะทำให้คงกระพันชาตรี ถ้าทำเป็นยาอายุวัฒนะจะต้องนำหัวว่านมาหั่นตากแห้งแล้วบดให้ละเอียดผสมน้ำผึ้งปั้นเป็นยาลูกกลอนกินก่อนเข้านอนทุกวัน

### ตัวอย่างการขยายพันธุ์พืชตระกูลจิงโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Hosoki and Sagawa (1977) ทำการทดลองฟอกฆ่าเชื้อจิงโดยใช้คลอโรกซ์ 10 % นาน 10 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง เลี้ยงบนอาหารที่มีธาตุอาหารหลักตามสูตร Murashige and Skoog (1962) และธาตุอาหารรองตามสูตร Ringe and Nitch (1968) ซูโครส 2 % ู้น 0.8 % pH 6.0 โดยเติม BA 1 mg/l สามารถเพิ่มจำนวนต้นและรากได้

Pillai and Kumar (1982) ทำการฆ่าเชื้อตาจากแง่งจิงที่มีอายุต่างกัน โดยใช้เมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1 % และเอธานอล 90 % ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง นำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร Schenk and Hildebrandt (1972) โดยไม่มีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าสามารถทำลายการพักตัวของตาจิงได้ และเมื่อทำการย้ายลงไปเลี้ยงใหม่ในอาหารสูตรเดิมสามารถเพิ่มจำนวนได้ภายในระยะเวลา 3 เดือน

Gati et al. (1987) ทำการฟอกตาของจิงแดงด้วยแอลกอฮอล์ 70 % ตามด้วยเมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.5 % และโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 50 % ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Murashige and Skoog (1962) ซูโครส 3 % ู้น 0.8 % pH 5.6 ± 0.1 โดยเติม BA 1 mg/l และ NAA 1 mg/l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้

Ikedo and Michael (1989) ศึกษาการเพิ่มปริมาณของต้นจิงโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร Murashige and Skoog (1962) เติม BA 11 µm ในอาหารเหลวสามารถเพิ่มปริมาณต้นได้ถึง 10 ต้นภายใน 45 วัน

สำหรับในประเทศไทย อรดี (2524) ได้ทดลองนำแง่งจิงหยวกมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยนำมาล้างน้ำสบู่ ใช้ผ้าชุบเอธานอล 70 % เช็ดแง่งจิง แล้วตัดเฉาะปลายแง่งจิง แช่ในน้ำยาคลอโรกซ์ 5 % นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วลอกเนื้อเยื่อที่หุ้มตาออกเลี้ยงในอาหารสูตร Murashige and Skoog (1962) โดยเติม BA 1 mg/l และ NAA 1 mg/l เลี้ยงที่อุณหภูมิ 26-28 องศาเซลเซียส ได้รับแสงประมาณ 2,000 ลักซ์ เป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวัน สามารถชักนำให้เกิดต้นเล็ก ๆ ได้

วิติภาส (2530) ได้ศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อ โดยการใช้ยาปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย และสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้นที่ปลอดโรค โดยการใช้คลอโรกซ์ 10 % ร่วมกับอโรไซด์ 50 2 % และเอธานอล 70 % ในการฟอกฆ่าเชื้อ ปรากฏว่าไม่สามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียได้ แต่สามารถรักษาตาจิงให้หายจากโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียได้ โดยเลี้ยงบน

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารเหลวสูตร Murashige and Skoog (1962) ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 % และ Streptomycin 500 mg/l เป็นเวลา 10 วัน นำต้นปลอดโรคที่ได้ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (1962) ที่เติม BA, Kinetin, 2-iP แต่ละสารใช้ความเข้มข้นที่ระดับ 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 mg/l เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม BA 10 mg/l สามารถเพิ่มจำนวนต้นเฉลี่ยสูงสุด 3.6 ต้น จาก ต้นเดิม 1 ต้น

สิรินทร์ (2532) ศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลในการเพิ่มปริมาณต้นขิง โดยศึกษาเปรียบเทียบระหว่างอาหารแข็งและอาหารเหลว พบว่า ขิงที่เลี้ยงบนอาหารเหลวจะให้จำนวนหน่อมากกว่า โดยสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุด คือ Murashige and Skoog (1962) และเมื่อมีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าอาหารเหลวสูตร Murashige and Skoog (1962) ที่เติม BA 5 mg/l สามารถเพิ่มปริมาณหน่อได้มากที่สุด

อังสนา (2533) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขิงพบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขิง คือ อาหารสูตร Murashige and Skoog (1962) ที่เติมซูโครส 3 % NAA 0.5 mg/l และ BA 15 mg/l ภายในระยะเวลา 45 วัน และการชักนำให้เกิดแคลลัสได้โดยการใช้เนื้อเยื่อบริเวณใต้ตาและปลายรากเลี้ยงบนอาหารสูตร Schenk and Hilderbrandt (1972) ที่เติม 2, 4 - D 0.5 mg/l, kinetin 0.1 mg/l และ NAA 2.0 mg/l สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ภายในระยะเวลา 1 เดือน

## ห้องปฏิบัติการ เครื่องมือ และอุปกรณ์ (ศิวพงศ์, 2541)

### 1. ห้องปฏิบัติการ

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีขนาดใหญ่หรือเล็กขึ้นอยู่กับปริมาณงานที่ทำ หรือเงินทุนที่มีอยู่ แต่ที่สำคัญ คือบริเวณที่ทำงานจะต้องมีความสะอาด ไม่มีฝุ่นละอองและเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์สามารถที่จะเจริญได้เร็วกว่าขิงเนื้อเยื่อหลายเท่า โดยห้องปฏิบัติการสามารถแยกเป็นส่วน ๆ ได้ดังนี้

1. ห้องสำหรับเก็บเครื่องแก้ว เครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมี (chemical stored room)

2. ห้องเตรียมอาหารและเก็บสารต้นตอ (media preparation room) ควรมีเนื้อที่กว้างขวางพอที่จะจัดอุปกรณ์ต่าง ๆ เช่น โต๊ะวางเครื่องมือ ตู้เย็นสำหรับเก็บอาหารเหลวและสารเคมีบางชนิดที่ต้องเก็บในที่เย็น เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter) เครื่องกรองน้ำ autoclave เครื่องชั่ง เป็นต้น

3. ห้องปลอดเชื้อ หรือห้องถ่ายเนื้อเยื่อ (transfer room) สำหรับถ่ายเนื้อเยื่อลงขวดอาหาร ต้องมีความสะอาดและปลอดเชื้อ จึงควรมีการปิดที่สนิท และมีการเข้าออกน้อยที่สุด อุปกรณ์ที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำคัญ ได้แก่ ตู้แช่เนื้อเยื่อ กล้องจุลทรรศน์ เครื่องวัดความนำไฟฟ้า สารเคมีและอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องกับการฟอกฆ่าเชื้อ

4.ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ ( culture room ) ถ้าเป็นห้องปฏิบัติการขนาดเล็กมักจะอยู่รวมกับห้องถ่ายเนื้อเยื่อ ต้องมีความสะอาดและปลอดเชื้อเช่นเดียวกัน และมีการควบคุมอุณหภูมิ แสง และความชื้น อุปกรณ์สำคัญได้แก่ ชั้นเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีขนาดเหมาะสม เครื่องปรับอากาศ เครื่องเขย่าสำหรับเนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหารเหลว

5.เรือนเพาะชำขนาดเล็กเพื่ออนุบาลต้นกล้าที่นำออกจากขวดเพื่อให้ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่

#### 6.บริเวณสังเกตและดูแลเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยง

การวางแผนในการจัดตั้งห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อควรคำนึงถึงสภาพแวดล้อมที่สะอาด เพราะเป็นสิ่งสำคัญที่สุดในความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สภาพแวดล้อมรอบ ๆ ก็ควรจะบริสุทธิ์ไม่มีฝุ่นละอองหรือมลพิษ ห้องและส่วนประกอบต่าง ๆ ควรจะปูด้วยวัสดุที่ทำความสะอาดง่าย ผิวเรียบ ฝุ่นและสารเคมีไม่จับ สะดวกในการทำความสะดวก

### ปัจจัยและหลักการต่าง ๆ ที่ควรคำนึงถึงในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

#### 1.1 หลักที่ควรคำนึงถึงในการออกแบบห้องปฏิบัติการ

ควรคำนึงถึงความสะอาดมากที่สุด การทำงานโดยภาพรวมและความสะดวกในการทำงานก็เป็นสิ่งสำคัญในการวางตำแหน่งของห้อง ห้องเตรียมอาหารเปรียบเสมือนห้องครัวควรมีอ่างสำหรับล้างอุปกรณ์ ตู้เย็นสำหรับเก็บสารบางอย่าง เช่น ฮอร์โมน มีชั้นสำหรับเก็บสารต้นตอ ฐานและน้ำตาล ซึ่งใช้ในการเตรียมอาหาร ควรมีโต๊ะขนาดใหญ่เพื่อสะดวกในการเตรียมอาหาร เครื่องวัดความเป็นกรด – ด่าง และเครื่องชั่ง และมีบริเวณสำหรับวางหม้อนึ่งความดัน ห้องเตรียมอาหารควรเป็นห้องเดียวที่มีทางติดต่อกับภายนอก ส่วนห้องถ่ายเนื้อเยื่อและห้องเพาะเลี้ยงไม่ควรมีประตูติดต่อกับภายนอกโดยตรง

ห้องถ่ายเนื้อเยื่อเป็นห้องที่มีความปลอดเชื้อมากที่สุดควรแยกออกจากห้องเตรียมอาหาร เพื่อสะดวกในการรักษาความสะอาดควรมีห้องเปลี่ยนเสื้อก่อนที่จะเข้ามาในห้องถ่ายเนื้อเยื่อ

ห้องเพาะเลี้ยง มีชั้นติดไฟให้สว่างประมาณ 3000 ลักซ์ เป็นห้องที่สะอาดและมีการควบคุมอุณหภูมิไม่ให้ร้อนมากเกินไป นิยมตั้งอุณหภูมิประมาณ 25-27 องศาเซลเซียส และควรติดตั้งเครื่องควบคุมไฟให้เปิดวันละประมาณ 16 ชั่วโมง ถ้ามีการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวควรมีการติดตั้งเครื่องเขย่าในห้องนี้ด้วย

## 1.2 แสงไฟ

ห้องปฏิบัติการต้องใช้ไฟฟ้าสำหรับอุปกรณ์แต่ละชนิดจำนวนมาก จึงควรแยกสายไฟ และมีระบบควบคุมไฟอย่างดี เพื่อป้องกันไฟฟ้าลัดวงจร ถ้าแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ร้อนมาก จะต้องแยกบัลลัสต์ออกไปติดนอกห้อง ควรมีแสง 16 ชั่วโมง มีด 8 ชั่วโมง

## 1.3 ห้องถ่ายเนื้อเยื่อ

ห้องถ่ายเนื้อเยื่อมีความสำคัญพอ ๆ กับห้องเตรียมอาหาร ห้องนี้จะต้องเป็นห้องที่มีความสะอาดมากที่สุด

## 1.4 ห้องเพาะเลี้ยง

ห้องเพาะเลี้ยงจะใช้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ โดยมีเครื่องควบคุมเวลาเพื่อให้แสง 16 ชั่วโมง และมีด 8 ชั่วโมง อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส และควรมีเครื่องเป่าอากาศเพื่อระบายอากาศ การที่มีอากาศหมุนจะช่วยระบายความร้อนเหนือหลอดไฟและบัลลัสต์ และความเย็นใกล้กับพื้น ให้สม่ำเสมอ

## 1.5 ห้องเตรียมอาหาร

ห้องเตรียมอาหารควรมีสิ่งต่อไปนี้ autoclave เครื่องต้มและกวน เครื่องวัดความเป็นกรด - ด่าง อ่างล้างอุปกรณ์ เครื่องกลั่นน้ำ โต๊ะขนาดใหญ่สำหรับเตรียมอาหาร ชั้นสำหรับวางอุปกรณ์และเครื่องแก้ว และตู้เก็บสารละลายต้นต่อ

ห้องนี้ควรทำความสะอาดได้ง่าย ถ้ามีพื้นที่มากพอควรแยกระหว่างบริเวณที่เปียกและบริเวณที่แห้งออกจากกัน และควรแบ่งมุมสำหรับเก็บสารเคมีและอุปกรณ์เครื่องแก้วที่ใช้ในห้องปฏิบัติการไว้ด้วย เพื่อสะดวกในการหยิบใช้ และควรแยกออกจากบริเวณที่เปียกเพื่อความปลอดภัย

## 1.6 เรือนเพาะชำ

เป็นเรือนเพาะชำสำหรับอนุบาลต้นกล้าที่นำออกจากขวด เพื่อในต้นพืชปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมภายนอกได้ดีก่อนนำออกสู่สภาพแวดล้อมในธรรมชาติ เรือนเพาะชำที่เหมาะสมควรมีลักษณะดังนี้

1. มีความเข้มแสงต่ำ โดยใช้ตาข่ายพรางแสงประมาณ 30-70 % ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช
2. มีความชื้นสัมพัทธ์สูง เนื่องจากในขวดเพาะเลี้ยงมีความชื้นสัมพัทธ์สูงถึง 99% ดังนั้นในช่วงแรก ๆ ที่นำพืชออกจากขวดจึงยังคงอนุบาลในบริเวณที่มีความชื้นสัมพัทธ์ค่อนข้างสูงประมาณ 1 สัปดาห์และค่อย ๆ ลดความชื้นลงเรื่อย ๆ
3. อุณหภูมิค่อนข้างต่ำ อาจใช้การทำหลังคา 2 ชั้น หรือการพ่นน้ำรดหลังคาเป็นระยะ ๆ ในช่วงกลางวันที่มีอุณหภูมิ
4. ป้องกันแมลงศัตรูพืชและพาหะนำโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2. อุปกรณ์และเครื่องมือ

อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อ ควรจัดให้อยู่ในบริเวณที่เหมาะสมและสะดวกในการใช้งาน สามารถจำแนกได้กว้าง ๆ ดังนี้

### 2.1 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

1. ซ้อนตักสารเคมี ทั้งที่เป็น โลหะ ไม้ และพลาสติก
2. เครื่องชั่ง ควรมีทั้งแบบหยาบและแบบละเอียด
3. เครื่องวัดความเป็นกรด – ด่าง
4. เตาอบความร้อน สำหรับอบฆ่าเชื้อที่อาจติดมากับอุปกรณ์และเครื่องมือที่สามารถทนต่อความร้อนสูง ๆ ได้
5. หม้อนึ่งความดันสำหรับนึ่งฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเนื้อเยื่ออุปกรณ์และเครื่องมือที่ไม่สามารถทนความร้อนของเตาอบความร้อนได้ โดยใช้ความดันไอน้ำที่ประมาณ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลาประมาณ 15 นาที
6. เตาอบไมโครเวฟ สำหรับหลอมอาหาร
7. เตาอบความร้อนและเครื่องคน สำหรับหลอมอาหารและสารเคมี โดยมีเครื่องคนด้วยระบบแท่งแม่เหล็ก
8. ตู้อุ่น ใช้เก็บสารเคมีที่เสถียรและสารละลายต้นต่อ
9. เข็กรองสารบางชนิดหากนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน หรือเตาอบความร้อนแล้ว จะทำให้คุณสมบัติเปลี่ยนไปหรือเสื่อมคุณภาพลง จึงนิยมใช้เข็กรองที่มีขนาดรูกว้างประมาณ 0.22  $\mu\text{m}$  ซึ่งสามารถกรองเชื้อแบคทีเรียและสปอร์ของเชื้อราได้เป็นอย่างดี
10. เครื่องแก้ว

### 2.2 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการย้ายเนื้อเยื่อพืช

1. ตู้อ้ายเนื้อเยื่อ ออกแบบพิเศษสำหรับกรองอากาศให้บริสุทธิ์ และเป็นທີ່สำหรับทำงานที่ต้องการเทคนิคปลอดเชื้อ
2. ตะเกียง อาจใช้ตะเกียงแอลกอฮอล์ ตะเกียงแก๊ส หรือตะเกียงบูลเสนก็ได้
3. กระจกทรงที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว
4. งานแก้วหรือพลาสติก ที่อบหรือนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว
5. มีดผ่าตัดแบบต่าง ๆ ที่อบหรือนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว
6. ปากคีบขนาดและแบบต่าง ๆ ที่อบหรือนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว
7. เครื่องปั่นเหวี่ยง พร้อมหลอดที่อบหรือนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. กล้องจุลทรรศน์ ทั้งแบบสองตาและแบบสามมิติ เพื่อการแยกหรือตรวจสอบเซลล์และเนื้อเยื่อ

9. อุปกรณ์อื่น ๆ เช่น เข็มเย็บ loop และคราดโลหะ

### 2.3 อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1. ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2. เครื่องควบคุมอุณหภูมิ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชส่วนใหญ่คือประมาณ

25°C

3. ชั้นเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีขนาดพอเหมาะและสะดวกต่อการเข้าไปตรวจสอบและติดตามผล

4. เครื่องควบคุมเวลา สำหรับตั้งเวลาปิดเปิดไฟกำหนดความยาวของช่วงแสง

5. เครื่องเขย่า สำหรับเนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหารเหลว

### 3. สารเคมี

สารเคมีที่จำเป็นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแยกเป็นหมวดหมู่ได้ดังนี้

#### 3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทำความสะอาด แยกได้เป็น

- สารเคมีที่ใช้ทำความสะอาดห้องทำงานและอุปกรณ์เครื่องแก้ว เช่น ผงซักฟอก น้ำยาล้างจาน น้ำยาฆ่าเชื้อโรค

- สารเคมีที่ใช้ทำความสะอาดชิ้นพืชได้แก่ เอทานอล 90% เอทานอล 70% แคลเซียมไฮโปคลอไรด์หรือน้ำยาคลอโรกซ์ เป็นต้น

#### 3.2 อาหารเพาะเลี้ยง ซึ่งประกอบด้วย

สารอินทรีย์พวกเกลือแร่ต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช ละสารอินทรีย์ที่เติมในอาหาร เพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโต ได้แก่ ฮอโมน วิตามิน กรดอะมิโน น้ำตาล วัณ เป็นต้น

### อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (รังสฤษฎี, 2540)

อาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายชนิด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมต่อชนิดของพืช พันธุ์ ตลอดจนชนิดและสภาพของชิ้นส่วนพืชที่จะนำมาเลี้ยง อย่างไรก็ตามอาหารที่นิยมใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมากที่สุดคืออาหารที่ดัดแปลงมาจากอาหารที่ใช้ได้ดีในการเลี้ยงกลุ่มเซลล์หรือแคลลัส ซึ่งเป็นกลุ่มของเซลล์ที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงพัฒนา มีช่องว่างในเซลล์จำนวนมากและเซลล์ยังไม่มีการจัดรูปร่างที่แน่นอน ทั้งนี้เนื่องจากการเลี้ยงแคลลัสและเซลล์แขวนลอยของพืชส่วนใหญ่เกือบทุกชนิดทำได้ง่ายกว่าการเลี้ยงจากส่วนอื่น ๆ แคลลัสนี้ได้จากการเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารกึ่งแข็งที่อ่อนนุ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่สุดประกอบด้วยเกลือของธาตุอาหารที่ต้องการครบ คือ สารประกอบอินทรีย์ และสารประกอบอินทรีย์ ในปริมาณที่ค่อนข้างสูง

แม้พืชทั้งต้นจะมีความต้องการขั้นพื้นฐานในการเจริญเติบโตไม่ซับซ้อนมากนักก็ตาม แต่การนำชิ้นส่วนของพืชมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์นั้นมีความต้องการธาตุอาหารและสารบางอย่างที่จำเป็นที่มีความซับซ้อนมากกว่า และมีลักษณะเป็น seldom autotrophic กล่าวคือ ต้องการทั้งมหธาตุและจุลธาตุ ที่ใช้ตามปกติในการเลี้ยงพืชในสารละลาย นอกจากนั้น ยังต้องการธาตุอาหารอื่น ๆ เช่น แคลเซียมของคาร์บอน และวิตามินอย่างมาก ปกติแล้วเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืชที่แยกมาเลี้ยงจะต้องการวิตามินและสารควบคุมการเจริญเติบโตต่าง ๆ ซึ่งปกติสังเคราะห์ได้เองจากส่วนหนึ่งของต้นเพื่อไปสะสมไว้ยังอีกส่วนหนึ่งของต้นพืช แล้วเคลื่อนย้ายไปยังส่วนอื่น ๆ เพื่อใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึม สามารถจำแนกสารเหล่านี้เป็นกลุ่ม ๆ ได้ดังนี้

### 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) ที่ใช้กันมาก ได้แก่ thiamine , nicotinic acid , pyridoxine , inositol , biotin , panthothenic acid , folic acid , choline chloride , riboflavin และ ascorbic acid

2.2 ฮอร์โมน และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant hormones and plant growth regulators) เป็นสารที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ หรือได้รับการสังเคราะห์ขึ้น และไม่ใช้ธาตุอาหารพืชแต่เมื่อพืชได้รับในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของพืช ได้แก่

สารในกลุ่มออกซิน (auxins) เป็นสารที่มีอิทธิพลหลายอย่างต่อการพัฒนาของพืช ได้แก่ การแบ่งเซลล์ การยืดตัวของเซลล์ การตอบสนองต่อแรงโน้มถ่วงของโลก การควบคุมการแตกกิ่งก้าน การหลุดร่วงของใบ การเกิดและการพัฒนาของดอก การติดผล การเกิดรากและการงอกของเมล็ด เป็นต้น ตัวอย่างสารในกลุ่มออกซิน เช่น

- indole-3-acetic acid (IAA)
- indole butyric acid (IBA)
- naphthaleneacetic acid (NAA)
- 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)
- 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารในกลุ่มไซโตไคนิน (cytokinins) เป็นฮอร์โมนที่พืชสร้างขึ้นในส่วนของปลายรากและ  
 อดุลำเลียงไปแสดงอิทธิพลในส่วนต่ง ๆ ของพืช ซึ่งผลของไซโตไคนินต่อการเจริญเติบโตของพืช  
 เช่น การแบ่งเซลล์ เร่งการขยายตัวของเซลล์ เป็นต้น นอกเหนือจากไซโตไคนินเข้าร่วมกระตุ้นทำ  
 ให้เกิดเซลล์ในราก พบว่าไซโตไคนินจะทำงานร่วมกับออกซินเร่งการแบ่งเซลล์ให้เพิ่มมากขึ้น  
 (ชวนพิศ , 2544 ) ตัวอย่างสารในกลุ่มไซโตไคนิน เช่น

- N<sub>6</sub>- Benzyladenine (BA)
- kinetin
- zeatin
- N<sub>6</sub>- isopentenyl adenine (2iP)

สารควบคุมการเจริญเติบโตอื่น ๆ เช่น

- gibberellic acid (GA)
- paclobutrazol
- abscissic acid (ABA)
- daminozide
- picloram

2.3 สารที่เป็นแหล่งคาร์บอน (carbon sources) ได้แก่ สารประกอบพวกน้ำตาลต่ง ๆ เช่น  
 glucose , sucrose , fructose , saccharose และ mannitol

2.4 กรดอะมิโน (amino acid) ได้แก่ glutanine , asparagine , adenine , glycine และ  
 caseinhydrolysate

2.5 สารประกอบอินทรีย์อื่น ๆ ส่วนใหญ่ได้มาจากธรรมชาติ เช่น น้ำมะพร้าว สารสกัดจาก  
 ยีสต์ น้ำต้มมันฝรั่ง น้ำคั้นมะเขือเทศ กล้วยหอมบด และจากมอลท์สกัด

แม้พืชทุกชนิดโดยปกติต้องการธาตุอาหารหลักที่เหมือนกันก็จริง แต่จะต้องการในปริมาณ  
 หรือความเข้มข้นที่ต่งกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารควบคุมการเจริญเติบโต พืชจะมีความต้องการที่  
 ต่งกันมาก ดังนั้นการเลือกอาหารเพื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชควรคำนึงถึง

1. ชนิดและสายพันธุ์ ( species and cultivars) พืชต่งชนิดและสายพันธุ์ ส่วนใหญ่มี  
 ต้องการธาตุอาหารที่ไม่เหมือนกัน
2. อายุและการพัฒนา ( age and stage of development ) แม้เป็นพืชชนิดและสายพันธุ์  
 เดียวกัน หากอายุและการพัฒนาต่งกันย่อมต้องการสารอาหารที่ต่งกันด้วย
3. ชนิดของชิ้นส่วนพืช ( explant materials ) พืชชนิดเดียวกันหากใช้ชิ้นส่วนจากส่วนที่  
 ต่งกันอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงก็ต่งกันด้วย

4. เป้าหมายของการเพาะเลี้ยง ( target of culture ) พืชชนิดเดียวกันแต่มีเป้าหมายที่ต่งกัน  
 สูตรอาหารที่ใช้ก็ต่งกันด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 5. สถานะของอาหาร (state of medium )

ดังนั้น นักวิทยาศาสตร์หลายคนได้พยายามคิดค้นสูตรอาหาร ที่คาดหมายว่าน่าจะเหมาะสม ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชออกมาหลายสูตร แต่ที่นิยมใช้กัน ได้แก่

สูตรอาหารของ Vacin and Went

สูตรอาหารของ Heller

สูตรอาหารของ Morel and Martin

สูตรอาหารของ Murashige and Skoog

สูตรอาหารของ Hildebrandt

สูตรอาหารของ Miller

สูตรอาหารของ White

สูตรอาหารของ Linsmaler and Skoog

สูตรอาหารของ Eeuwens หรือ Y3

สูตรอาหารของ Nisch and Nisch

สูตรอาหารของ Gamborg

สูตรอาหารของ Nagata and Takebe

### ข้อสังเกตเกี่ยวกับอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

1. ความต้องการเกลืออนินทรีย์ แม้ว่าสูตรอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในระยะแรกจะเหมาะสม ต่อการเลี้ยงเซลล์และแคลลัส แต่ในระยะต่อมา เช่น สูตรของ Murashige and Skoog (MS) , Gamborg B-5 และของ Miller ได้รับการพัฒนาให้เหมาะสมต่อการเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของพืชได้ กว้างขวางมากขึ้น ทั้งยังมีผลดีอย่างมากในการกระตุ้นการเกิดอวัยวะ โดยการกำหนดปริมาณเกลือ อนินทรีย์ให้เหมาะต่อการเจริญของเซลล์ที่เลี้ยงแต่ละพืชและในบางกรณีเฉพาะในแต่ละพันธุ์

2. osmolarity และความเข้มข้นของประจุธาตุ การกำเนิดคัพภะของเนื้อเยื่อพืชที่เลี้ยงเป็นไป ได้ค่อนข้างดีเมื่อใช้สายละลายเกลือที่มี osmolarity สูง

### 3. อินทรีย์สาร

3.1 วิตามิน (vitamins) วิตามินที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนใหญ่เป็นการใช้ตามกัน มากกว่าการพิสูจน์หรือทดสอบว่ามีความจำเป็นหรือไม่

3.2 แหล่งให้ธาตุคาร์บอน (carbon sources) เช่น น้ำตาลซูโครส ซึ่งมีความจำเป็นอย่างมาก ต่อเนื้อเยื่อพืชเกือบทุกชนิด เนื่องจากมีเซลล์พืชมีลักษณะที่เป็น autotrophic และมีหลักฐาน ชี้ว่าการสร้างเมตาโบไลต์บางชนิดในเนื้อเยื่อที่เลี้ยงเป็นผลมาจากความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส

3.3 สารควบคุมการเจริญเติบโต (growth regulators) ฮอโมนที่สร้างขึ้นในต้นพืชทำหน้าที่ กระตุ้นและมีส่วนร่วมในกระบวนการต่าง ๆ ที่นำไปสู่การพัฒนาของต้นที่เป็นปกติ การ เจริญเติบโตตลอดจนการเปลี่ยนแปลงพัฒนาของเซลล์ เนื้อเยื่อ และ secondary metabolism เป็นผล

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาจากฮอร์โมนเหล่านี้ทั้งสิ้น การเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตลงในอาหารอาจไม่จำเป็นเสมอไป โดยเฉพาะในการเลี้ยงเซลล์สัตว์ อย่างไรก็ตาม โดยปกติจะมีส่วนช่วยในการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตและ/หรือการกำเนิดอวัยวะ และมีเนื้อเยื่อพืชไม่กี่ชนิดที่สร้างเซลล์สัตว์ได้ในอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต

3.4 กรดอะมิโนและเอไมด์ ความต้องการกรดอะมิโนของเนื้อเยื่อที่เลี้ยง สามารถคำนวณได้โดยผันแปรปริมาณการเติม protein hydrolysate

3.5 ไนโตรเจนเบส สารประกอบพวกไนโตรเจนเบส กรด cytidylic acid และ guanylic acid มีส่วนกระตุ้นการเจริญเติบโตของเซลล์สัตว์ที่เลี้ยง

3.6 สารประกอบธรรมชาติที่ซับซ้อน เช่น น้ำมะพร้าว สารสกัดจากยีสต์ และ protein hydrolysate ซึ่งเคยถูกนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

#### 4. ฮอร์โมนพืชหรือสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

การเจริญเติบโตและการพัฒนาการของพืชเป็นกระบวนการที่ซับซ้อนเพราะได้รับผลกระทบมาจากปัจจัยหลายอย่าง เช่น แสง อุณหภูมิ ความชื้น ลม แรงดึงดูดของโลก อากาศ ซึ่งสิ่งต่างๆ เหล่านี้เป็นปัจจัยภายนอก และจากสารเคมีที่อยู่ภายในพืชเองซึ่งจัดว่าเป็นปัจจัยภายใน ในบรรดาสารที่มีซึ่งควบคุมการเจริญเติบโตของพืชนั้นฮอร์โมนนับว่าเป็นบทบาทมากในการควบคุมกิจกรรมหลายชนิดภายในพืช เช่น การเกิดราก การพักตัวของเมล็ด การติดดอกและผล การร่วงและการเสื่อม เป็นต้น ( สัมพันธ์, 2526 )

ฮอร์โมนพืช ( plant hormones ) หมายถึง “อินทรีย์สาร ” ( ชวนพิศ, 2544 ) เป็นสารพืชที่พืชสร้างขึ้นในปริมาณน้อย ( พีรเดช, 2529 ) ในบริเวณหนึ่งบริเวณใดแล้วส่งไปออกฤทธิ์อีกบริเวณหนึ่ง ซึ่งจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชแล้วแต่ชนิดของฮอร์โมนนั้น ฮอร์โมนในปัจจุบันมีการใช้หลากหลาย ซึ่งส่วนหนึ่งเป็นการสังเคราะห์ และส่วนหนึ่งพืชจะสร้างขึ้นเอง ( ชวนพิศ, 2544 ) อาจหมายความรวมถึงวิตามินบางชนิด แต่ไม่รวมถึงอาหารที่พืชสร้างขึ้น ( พีรเดช, 2529 )

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

เพื่อให้เข้าใจง่ายขึ้นอาจกล่าวได้ว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช มีความหมายรวมถึงฮอร์โมนพืช โดยตรงและสารที่มนุษย์สังเคราะห์ขึ้นมาใช้ประโยชน์ในทางการเกษตรไม่อาจใช้ฮอร์โมนพืชโดยตรงเนื่องจากการสกัดสารดังกล่าวทำได้ยาก และใช้ต้นทุนสูง ดังนั้นสารที่ใช้กันอยู่ทุกวันนี้จึงเป็นสารสังเคราะห์แทบทั้งสิ้น ถ้ากล่าวให้ถูกต้องควรเรียกรวมว่า สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ( พีรเดช, 2529 )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากคำนิยามสรุปได้ว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต้องมีคุณสมบัติ ดังนี้คือ ( นพดล ,2537 )

1. ต้องเป็นสารอินทรีย์ซึ่งประกอบด้วย คาร์บอน ( C ) ไฮโดรเจน ( H ) และออกซิเจน ( O ) เป็นหลัก

2. ฮอร์โมนพืชโดยทั่วไปจะมีประสิทธิภาพที่จะก่อให้เกิดการตอบสนองจากพืชในความเข้มข้นภายในต้นพืชต่ำมากๆ คือ ไมโครโมล หรือ ppm. ( ส่วนในล้านส่วน )

3. ไม่ใช่อาหาร หรือธาตุอาหารพืช เช่น น้ำตาล sucrose ไม่ได้ถือว่าเป็นฮอร์โมนแม้ว่าจะมีการลำเลียง มีการสังเคราะห์จากพืช และก่อให้เกิดการเจริญเติบโตได้ แต่จะมีผลเมื่อมีความเข้มข้นค่อนข้างสูง ในระดับ 1-5 mM เช่นเดียวกับ amino acid ต่างๆ กรดอินทรีย์ ธาตุอาหารต่างๆ

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชตามธรรมชาติจำแนกได้ 5 ประเภท โดยอาศัยคุณสมบัติการตอบสนองของฮอร์โมนในการสร้างกิจกรรมในทางสรีรวิทยา ฮอร์โมนพืชเหล่านี้ได้แก่ ออกซิน ( auxin ) จิบเบอเรลลิน ( gibberellin ) ไซโตไคนิน ( cytokinins ) อินฮิบิเตอร์หรือสารยับยั้ง ( inhibitors ) และเอทิลีน ( ethylene ) ( สัมฤทธิ์ ,2537 ) ในที่นี้จะขอกกล่าวเพียง 2 กลุ่มคือ

#### 1. ออกซิน ( auxin )

เป็นฮอร์โมนตัวแรกที่ค้นพบในพืช ว่าทำให้เกิดการโค้งงอของส่วนยอดต้นพืช เป็นกลุ่มสารที่เกี่ยวข้องกับการขยายขนาดของเซลล์ และมีการแบ่งเซลล์ ทำให้ส่วนของพืชมีการเจริญเติบโตและยืดยาวขึ้น ( ชวนพิศ,2544 ) และยังมีผลต่อการตอบสนองต่อแรงโน้มถ่วงของโลก การควบคุมการแตกกิ่งก้าน การหลุดร่วงของใบ การเกิดและพัฒนาดอก การติดผล การเกิดราก การงอกเมล็ด หรืออาจช่วยเปลี่ยนเพศดอกของพืชบางชนิดได้ ( พีรเดช,2529 ) เป็นต้น สำหรับผลผลิตที่เกี่ยวเนื่องมาแล้วพบว่าออกซินมีบทบาทในการชะลอการชราภาพของผลผลิตต่างๆ ด้วย

ในการทดลองให้ออกซินกับใบและผลไม้อายุหลายชนิดพบว่า ออกซินสามารถชะลอการชราภาพการสุกของผลไม้เหล่านั้นได้ เช่น ให้ IAA กับกล้วยหอมที่ถูกตัดเป็นแว่น IAA สามารถชะลอการสุกได้นาน 41 วัน หลังจากนั้นการสุกจะเกิดขึ้นได้อย่างปกติ แต่การทดลองให้ IAA กับผลสาลี่ยุโรปแม้จะชะลอการสุกของผล แต่จะไปกระตุ้นการเกิดเอทิลีน ซึ่งเป็นฮอร์โมนเร่งการสุกของผลไม้ ข้อมูลอาจขัดแย้งกันแต่เมื่อพิจารณาปริมาณออกซินในผลไม้หลายชนิดพบว่า มีอยู่สูงในระหว่างการเจริญเติบโตและจะน้อยเมื่อเริ่มบิรุณ

สันนิษฐานกันว่า แม้ออกซินจะกระตุ้นให้มีการสร้างเอทิลีนมากขึ้น แต่ในขณะเดียวกันจะไปยับยั้งการทำงานของเอทิลีน เอทิลีนจะทำงานหรือไปกระตุ้นการสุกของผลไม้ไม่ได้ก็ต่อเมื่อปริมาณออกซินในผลลดลงเป็นปริมาณพอสมควรแล้วเท่านั้น ( จริงแท้,2541 )

ส่วนใหญ่พืชจะสร้างออกซินอยู่ในรูปสารเคมี ได้แก่ บริเวณเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด ปลายราก และตาที่กำลังเจริญใบอ่อนและเอ็มบริโอ เมื่อสร้างขึ้นแล้วจะลำเลียงไปยังส่วนต่างๆ ของพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างมีทิศทาง สารที่มีคุณสมบัติเป็นสารออกซินจะมีโครงสร้างคล้ายคลึงกัน 2 ประการ คือ Unsaturated ring และ Acidic side chain

#### ผลของออกซินต่อการเจริญเติบโตของพืช

กระตุ้นการแบ่งเซลล์ ซึ่งมีการกระตุ้นให้เกิดการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก และโปรตีน นอกจากนี้ยังมีการเร่งการขยายขนาดของเซลล์ โดยเฉพาะขนาดของเซลล์และกระตุ้นสารที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์เพื่อนำไปสร้างผนังเซลล์ใหม่ จากการแบ่งตัวและขยายขนาดของเซลล์ ทำให้พืชมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น แต่อย่างไรก็ตามในแต่ละส่วนของพืชจะมีการตอบสนองต่อออกซินในปริมาณที่ต่างกัน เช่น ในส่วนของรากจะตอบสนองต่อออกซินต่ำ ( ชวนพิศ,2544 )

ควบคุมการแตกของรากโดยจะช่วยให้กิ่งปักชำและกิ่งตอนเกิดรากได้ ( ชวนพิศ,2544 ) ปริมาณออกซินที่เร่งการก่อกำเนิดราก ได้แก่ความเข้มข้นต่างๆ กันตั้งแต่ 0.01 ถึง 20 มิลลิกรัมต่อลิตรของอาหาร ( อ้อมบุญ,2536 )

ยับยั้งการเจริญของตาข้างซึ่งออกซินในพืชสร้างขึ้นที่ปลายยอดและเคลื่อนที่ไปยังส่วนต่างๆ จะมีผลยับยั้งการเจริญของตาข้างมิให้ออกกิ่ง อาจใช้ป้องกันการร่วงของใบและผล เพื่อไม่ให้ออกกิ่งก่อนการเก็บเกี่ยว เป็นการเพิ่มการติดผลและการขยายขนาดของผลนอกจากนี้ยังเป็นสารกำจัดวัชพืช ออกซินในระดับความเข้มข้นสูง จะยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช โดยเฉพาะใบกว้าง ( ชวนพิศ,2544 )

## 2. ไซโตไคนิน ( cytokinin )

ไซโตไคนินเป็นฮอร์โมนที่พืชสร้างขึ้นในส่วนของปลายรากเป็นส่วนใหญ่ และถูกทำลายไปแสดงอิทธิพลในส่วนต่างๆ ของพืช ( จริงแท้,2541 ) ไซโตไคนินส่วนใหญ่ใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชปัจจุบันเริ่มนำมาใช้ในการแตกตาข้างของพืชอย่างกว้างขวาง ( พิศเดช,2529 )

#### ผลของไซโตไคนินต่อการเจริญเติบโตของพืช

ทำให้มีการแบ่งเซลล์ มีการสร้างเนื้อเยื่อในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไซโตไคนิน พบว่าเนื้อเยื่อจะถูกชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์และสร้างแคลลัสขึ้นอย่างรวดเร็ว สำหรับในรากพืช พบว่าพืชต้องการสารอื่น นอกเหนือจากไซโตไคนินเข้าร่วมกระตุ้นทำให้เกิดเซลล์ในราก โดยพบว่า ไซโตไคนินจะทำงานร่วมกับออกซิน เร่งการแบ่งเซลล์ให้มากขึ้น และนอกจากนี้ยังเร่งการขยายตัวของเซลล์

มีการส่งเสริมการสร้างโปรตีน ไซโตไคนินจะดึงกรดอะมิโนเข้าใกล้ตัวแล้วสร้าง DNA ทำหน้าที่ชะลอการแก่ของใบ ยังช่วยให้ใบสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ได้เพิ่มและช่วยชะลอการเสื่อมสลายของคลอโรฟิลล์ นอกจากนี้ยังช่วยควบคุมการปิด-เปิดของปากใบ ซึ่งปากใบสามารถปิดเปิดปากใบได้ในที่มีด ( ชวนพิศ,2544 )

ไซโตไคนินสามารถกระตุ้นตาข้างให้เจริญเติบโตได้ และยังกระตุ้นเมล็ดและตาข้างให้งอกได้เนื่องจากปฏิกิริยาระหว่างออกซินและไซโตไคนิน นอกจากกระตุ้นการแบ่งเซลล์แล้ว ยัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระตุ้นให้เกิดตาอีกด้วยในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพที่ปลอดเชื้อนั้น เมื่ออัตราระหว่างออกซินและไซโตไคนินไม่เหมาะสมการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อจะไม่ดีเท่าที่ควรคือ ถ้ามีออกซินมากเกินไปเนื้อเยื่อจะมีรากมากขึ้นแต่มีการเจริญของตาเพียงเล็กน้อยเท่านั้น และในทางกลับกันถ้าอาหารที่ใช้เลี้ยงมีไซโตไคนินมากเกินไปเนื้อเยื่อจะมีการเจริญของตามากแต่รากน้อย อัตราส่วนที่พอเหมาะระหว่างฮอร์โมนทั้งสองของเนื้อเยื่อแต่ละชนิดจะแตกต่างกันออกไป ( ชวนพิศ,2544 ) ถ้าอัตราของสาร 2 กลุ่มนี้สมดุลเนื้อเยื่อจะพัฒนาเป็นทั้งตาข้างและราก ( ไพบุลย์,2524 ) ปริมาณไซโตไคนินที่เร่งการก่อกำเนิดตาข้างหรือยอดอ่อน ได้แก่ความเข้มข้นต่างๆ กันตั้งแต่ 0.1 ถึง 20 มิลลิกรัมต่อลิตรของอาหาร ( อ้อมบุญ,2536 )

ไซโตไคนินจะช่วยรักษาผักไว้ได้นานขึ้น สารพวก bedzyladenine ( BA ) มีความสำคัญในทางเศรษฐกิจ เนื่องจากพืชผักที่ได้รับสารนี้จะสดอยู่นาน อาจเนื่องจากสารดังกล่าวไปลดการหายใจของพืชในการเคลื่อนย้ายอาหารในส่วนของใบพืชที่ได้รับไซโตไคนินสามารถจะดึงสารอาหารจากส่วนอื่นๆ ได้ ดังนั้น ส่วนที่ได้รับสารดังกล่าวจะอยู่ได้นานกว่าส่วนอื่นๆ จึงนำมาใช้ในการยืดอายุการเก็บรักษาผลไม้ ดอกไม้ และผักสดต่างๆ ( ชวนพิศ,2544 ) การใช้ไซโตไคนินกับผลไม้พบว่า ไซโตไคนินสามารถชะลอการเปลี่ยนสีของกล้วยหอม(ที่ถูกตัดเป็นแว่น) ได้ แต่ไม่ชะลอการสุกอื่นๆ เช่น การอ่อนตัวของเนื้อ หรือการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล การศึกษาในสัมพบว่า bedzyladenine ( BA ) ชะลอการเปลี่ยนเป็นสีเหลืองได้ โดยไปมีผลต่อการรักษาระดับจิบเบอเรลลินและป้องกันการเพิ่มขึ้นของสารที่คล้ายกับ ABA ภายในเนื้อเยื่อผิวส้มแต่ในส้มที่ยังอ่อนอยู่ bedzyladenine ( BA ) กลับมีผลเร่งให้สีเขียวเป็นสีเหลืองเร็วขึ้นอย่างไรก็ตามไซโตไคนินอาจเป็นอันตรายต่อมนุษย์ จึงไม่ปรากฏว่ามีการใช้ไซโตไคนินเพื่อชะลอการสุกหรือการชราภาพของผลิตผลสำหรับผู้บริโภค ( จริงแท้,2541 )

##### 5. คุณภาพของอาหาร (medium quality)

สภาพของอาหาร (medium condition)

1. อาหารกึ่งแข็ง (semi-solid medium) มีการใช้วุ้นเพื่อปรับสารละลายอาหารให้มีสภาพเป็นของแข็งมากขึ้น แต่มักพบว่าคุณสมบัติต่าง ๆ ของสารประกอบเคมีในอาหารอาจไม่ได้รับสูงสุดเท่ากับอาหารเหลว การใช้วุ้นปริมาณมากเกินไปอาจไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อได้ ดังนั้นความเข้มข้นของวุ้นที่เหมาะสมสำหรับอาหารแต่ละชนิดจะต้องมีการทดสอบเสียก่อน อย่างไรก็ตาม ความเข้มข้นที่ใช้กันแพร่หลายและได้ผลดี คือ 0.8 %

2. อาหารเหลว (liquid medium) อาหารเหลวเป็นที่นิยมใช้อย่างกว้างขวาง เนื่องจากเนื้อเยื่อจะจมหรือแขวนลอยอยู่บนกระดาษกรองที่จุ่มในอาหารตลอดเวลา เนื้อเยื่อที่จมอยู่ในอาหารเหลวอาจถูกคนที่ความเร็ว 1-150 รอบ/นาที เพื่อช่วยในการหายใจ

3. ความเป็นกรด-ด่างของอาหาร (pH of nutrient medium) จากการศึกษาพบว่าผลในการกระตุ้นการเจริญเติบโตและการเลือกกระตุ้นของอาหารที่ใช้เลี้ยงนั้นขึ้นอยู่กับ pH ด้วย โดยทั่วไปจะปรับให้มีค่าเป็น 5.0-6.0 ก่อนเติมวุ้นและนำไปฆ่าเชื้อ

4. ปริมาณอาหารที่เหมาะสม (optimum volume of medium) การใช้อาหารมากเกินไปอาจเป็นผลเสียต่อการเจริญเติบโตได้ หากใช้ในปริมาณที่น้อยเกินไปธาตุอาหารอาจไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโต

5. การฆ่าเชื้อในอาหาร (sterilization of medium) โดยการนำอาหารที่เตรียมเรียบร้อยแล้วนี้ลงในหม้อนึ่งความดัน (autoclave) นิยามหนึ่งที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ส่วนประกอบของอาหารที่เสียหายได้จากความร้อนสามารถใช้วิธีการกรองแล้วเติมลงในอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

### อุปกรณ์

1. พืชทดลอง ได้แก่ ใพล
2. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร
  - 2.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)
  - 2.2 น้ำตาลทราย
  - 2.3 พงวุ้น (agar)
  - 2.4 น้ำกลั่น
3. เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร
  - บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 1000 ml
  - แท่งแก้วคนสาร
  - ช้อนตักสาร (spatule)
  - เครื่องชั่ง (balance)
  - กระบอกตวงขนาด 1000 ml
  - ปิเปต (pipette)
  - ขวดแก้ว (bottle) สำหรับใส่อาหารพร้อมปิดฝา
  - หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave)
  - เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter)
  - เตาอุ่นความร้อนและเครื่องคน (hot plate and magnetic stirrer)
  - กระจกพรอยด์
4. สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ คลอโรกซ์ (clorox) และสารจับใบ (teepol)
5. เครื่องมือที่ใช้ในการย้ายชิ้นส่วนของพืชประกอบด้วย ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air-flow cabinet) และเครื่องมือที่ใช้ในตู้ปลอดเชื้อ ได้แก่ มีดผ่าตัด (knives and scalpels) ปากคีบ (forceps) ตะเกียง (turnel) งานแก้ว (petri dish) และขวดใส่แอลกอฮอล์ 95%
6. เครื่องเขย่า (shaker)
7. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (culture room) ที่ควบคุมอุณหภูมิ 28±3 องศาเซลเซียส ให้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ความเข้มแสงประมาณ 3,000 ลักซ์ (lux) นาน 16 ชั่วโมง และไม่ให้แสง 8 ชั่วโมง ควบคุมการปิด-เปิดด้วยเครื่องตั้งเวลา
8. ชั้นสำหรับวางขวดเนื้อเยื่อ
9. อุปกรณ์ถ่ายภาพ กล้อง กระจกพรอยด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## วิธีการทดลอง

### 1. การเตรียมอาหารสูตร MS

ขั้นตอนการเตรียมอาหาร (ปริมาตร 1 ลิตร)

1. ชั่งน้ำตาล 30 กรัม เติมน้ำประมาณ 500 ml คนน้ำตาลให้ละลาย
2. ผสมสารละลายจาก stock solutions ต่าง ๆ มารวมกัน โดยใช้ปริมาตรดังต่อไปนี้

stock ที่ 1	จำนวน 20	ml
stock ที่ 2	จำนวน 10	ml
stock ที่ 3	จำนวน 10	ml
stock ที่ 4	จำนวน 10	ml
stock ที่ 5	จำนวน 10	ml

3. ปรับปริมาตรโดยเติมน้ำกลั่นให้ได้ 1000 มล. (1 ลิตร)
4. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ( pH ) ให้ได้ค่า pH 5.8 ถ้า pH ต่ำกว่า 5.8 ให้เติม NaOH 1 N เพื่อปรับ pH ให้มีค่าสูงขึ้น ถ้า pH สูงกว่า 5.8 ให้เติม HCl 1 N เพื่อลด pH ให้ต่ำลง จนกระทั่งได้ค่า pH อยู่ในช่วง 5.8
5. นำอาหารมาต้มให้เดือดเต็มวัน 11 ชั่วโมง คนให้ละลาย
6. นำอาหารมาแบ่งใส่ขวด ปิดฝาให้แน่น
7. นำขวดอาหาร ไปนึ่งฆ่าเชื้อโดยใช้ autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว นาน 15-20 นาที และนำออกจาก autoclave เมื่อความดันลดลงใกล้ศูนย์
8. เก็บขวดอาหารไว้ให้เย็นในบริเวณที่สะอาด ปลอดภัย และควรเก็บอาหารไว้ 2-3 วัน ก่อนนำมาใช้เพื่อให้แน่ใจว่าอาหารปลอดภัย

### 2. การเตรียมน้ำฟอกฆ่าเชื้อ

1. clorox 10% ได้จากการใช้น้ำกลั่น 90 ml นึ่งฆ่าเชื้อไว้ก่อน เมื่อจะใช้จึงเติม clorox 10 ml และ teepol 1 – 2 หยด
2. clorox 5% ได้จากการใช้น้ำกลั่น 95 ml นึ่งฆ่าเชื้อไว้ก่อน เมื่อจะใช้จึงเติม clorox 5 ml และ teepol 1 – 2 หยด

### 3. การเตรียมชิ้นส่วนพืชและการทำความสะอาด

1. นำหัวไหลมาล้างให้สะอาด จากนั้นปลอดเปลือกออกให้หมด โดยให้กระทบกระเทือนตาไหลน้อยที่สุด
2. นำหัวไหลมาล้าง โดยการผ่านน้ำไหล (running) โดยเติม teepol 2 – 3 หยด จากนั้นเปิดน้ำไหลผ่านนาน ๆ เพื่อทำความสะอาดอีกครั้ง
3. นำชิ้นส่วนของไหลมาฟอกฆ่าเชื้อ โดยแช่ใน Clorox + teepol 1 – 2 หยด นาน 10 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละประมาณ 5 นาที

#### 4. การเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์

1. นำชิ้นส่วนที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาตัดเอาส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อเจริญ ขนาดชิ้นส่วนไม่เกิน 1 เซนติเมตร มาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มีความเข้มข้นของระดับ BA 1 ppm เพื่อเพิ่มจำนวนต้นให้มากพอเพื่อนำไปทดสอบฮอร์โมน BA ที่ความเข้มข้นในระดับต่าง ๆ กันต่อไป โดย subculture ทุก 6 สัปดาห์

2. ย้ายไพลจากต้นหลักที่มีความเข้มข้นฮอร์โมน BA 1 ppm ไปเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน BA ต่างกัน ได้แก่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ppm โดยใช้ 1 ต้น / 1 ขวด เป็นเวลา 45 วัน

3. ย้ายไพลที่ได้จากข้อ 2 ลงในอาหารที่มีฮอร์โมน BA ในระดับต่างกัน ได้แก่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ppm โดยใช้ 1 ต้น / 1 ขวด ลงในอาหารสูตรเดิม เป็นเวลา 45 วัน

#### 5. การบันทึกผลที่ได้ในแต่ละระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน



## ระยะเวลาและสถานที่ทำการทดลอง

### ระยะเวลาในการทดลอง

- การฟอกฆ่าเชื้อ วันที่ 11 ธันวาคม 2545
- การ subculture เพื่อเพิ่มจำนวนต้นไพลในอาหารสูตร MS + BA 1 mg/l
  - ครั้งที่แรก วันที่ 10 มกราคม 2546
  - ครั้งที่ 2 วันที่ 19 กุมภาพันธ์ 2546
  - ครั้งที่ 3 วันที่ 19 เมษายน 2546
  - ครั้งที่ 4 วันที่ 10 มิถุนายน 2546
  - ครั้งที่ 5 วันที่ 5 สิงหาคม 2546
- เมื่อได้ต้นจำนวนเพียงพอแล้วจึงนำต้นไพลที่ได้มาทำการทดลองต่อไป
- การทดลองครั้งที่ 1 วันที่ 19 กันยายน 2546
- เช็คผลการทดลองครั้งที่ 1 วันที่ 6 พฤศจิกายน 2546
- ทำการทดลองครั้งที่ 2 วันที่ 11 พฤศจิกายน 2546
- เช็คผลการทดลองครั้งที่ 2 วันที่ 26 ธันวาคม 2546

### สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สาขาวิชาพืชไร่ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

### ผลการทดลองและวิจารณ์

จากชิ้นส่วนเริ่มต้นของไหลที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA 1 ppm ผลการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อไหล ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA เป็นเวลา 60 วัน แล้วจึง subculture ลงในอาหารสูตร MS + BA ที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน BA เท่ากับ 0 , 1 , 2 , 3 , 4 และ 5 (ppm) เมื่อเลี้ยงได้ 45 วัน ไพลมีการแตกหน่อเพิ่มขึ้น(ตารางที่ 1) ผลการเจริญเติบโตและความแข็งแรงดังแสดงในตารางที่ 2 จึงทำการ subculture ครั้งที่ 2 เลี้ยงในอาหารสูตรเดิม เมื่อครบ 45 วัน ไพลมีการแตกหน่อเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 3 ) ผลการเจริญเติบโตและความแข็งแรงดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 1 แสดงการแตกหน่อของไหล จาก explant ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA ที่ความเข้มข้นฮอร์โมน BA เท่ากับ 0 , 1 , 2 , 3 , 4 และ 5 ppm ในการทดลองครั้งแรก เมื่ออายุครบ 45 วัน โดยแสดงผลเป็นระดับคะแนนการแตกหน่อของไหล

ความเข้มข้นของ BA ( ppm )	ซ้ำที่ (ระดับคะแนน)										ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
0	1	1	1	1	2	1	1	2	1	2	1.3
1	3	1	3	1	2	3	3	2	4	2	2.4
2	1	2	1	2	2	4	3	2	2	2	2.1
3	2	3	4	3	3	3	2	4	3	3	3
4	3	3	4	3	1	3	2	2	3	3	2.7
5	5	3	5	2	2	4	3	5	2	2	3.3

หมายเหตุ เกณฑ์การให้คะแนน

ไม่มีการแตกหน่อจากต้นหลัก	เท่ากับ 1
มีการแตกหน่อ 1 จากต้นหลัก	เท่ากับ 2
มีการแตกหน่อ 2 จากต้นหลัก	เท่ากับ 3
มีการแตกหน่อ 3 จากต้นหลัก	เท่ากับ 4
มีการแตกหน่อมากกว่า 4 จากต้นหลัก	เท่ากับ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางพบว่าไพลที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีการเติมฮอร์โมน BA พบว่าไพลแทบไม่มีการแตกหน่อเพิ่มขึ้น เมื่อมีการเติมฮอร์โมน BA ในอาหารสูตร MS พบว่าไพลมีแนวโน้มสูงขึ้นในการแตกหน่อ ซึ่งในการทดลองครั้งนี้อาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 5 ppm มีการแตกหน่อเพิ่มขึ้นมากที่สุด ( 3.3 หน่อ ) รองลงมา คือ 3 , 4 , 1 , 2 และ 0 ppm ตามลำดับ เนื่องจาก BA เป็นสารในกลุ่มไซโตไคนินซึ่งมีผลต่อการแบ่งเซลล์ และกระตุ้นทางด้านข้างให้เจริญเติบโตได้ (ชวณพิศ,2544) ดังนั้นหากต้องการเพิ่มจำนวนต้นจึงควรนำไพลมาเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้นสูง

ตารางที่ 2 แสดงผลการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไพล จาก explant ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA ที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน BA เท่ากับ 0 , 1 , 2 , 3 , 4 และ 5 ppm เมื่ออายุครบ 45 วัน ในการทดลองครั้งแรก โดยแสดงผลเป็นระดับคะแนนการเจริญเติบโตและความแข็งแรงของต้นไพล

ความเข้มข้นของ BA (ppm)	ซ้ำที่ (ระดับคะแนน)										ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
0	1	1	1	1	1	1.5	1	1	1	2	1.15
1	2.5	1	2.5	1	1.5	4	2.5	4	2.25	2	2.325
2	2	2	1	1.5	2	4	2.5	2.25	2	1.75	2.1
3	3	4	2	1.5	2	4	2	2.5	2.5	2.75	2.625
4	2.5	3	2.5	2.5	1	3.5	1.25	2	3	2.5	2.375
5	3	2	2	1	1.5	3.5	1.5	3.5	2	3	2.3

หมายเหตุ เกณฑ์การให้คะแนน

ไม่มีการเจริญเติบโต	เท่ากับ 1
มีการเจริญเติบโตปานกลาง	เท่ากับ 2
มีการเจริญเติบโตดี	เท่ากับ 3
มีการเจริญเติบโตดีมาก	เท่ากับ 4

จากตารางพบว่าไพลที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีการเติมฮอร์โมน BA พบว่าไพลแทบไม่มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น เมื่อมีการเติมฮอร์โมน BA ในอาหารสูตร MS พบว่าไพลมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นในระดับที่ใกล้เคียงกัน ที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน BA 3 ppm ไพลมีการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจริญเติบโตมากที่สุด ( ระดับ 2.625 คะแนน ) รองลงมา คือ 4 , 1 , 5 , 2 และ 0 ppm ตามลำดับ เนื่องจากฮอร์โมน BA เป็นฮอร์โมนในกลุ่มของไซโตไคนิน ที่มีผลต่อการแบ่งเซลล์ และทำให้การเจริญเติบโตเกิดขึ้นโดยการส่งเสริมการยึดตัวของเซลล์ ( พีรเดช,2529 ) การที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน BA ที่ 3 ppm ไพลมีการเจริญเติบโตสูงสุด อาจจะเป็นเพราะว่าที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน 1 และ 2 ppm มีความเข้มข้นน้อยเกินไปสำหรับการเจริญเติบโตของไพล แต่ที่ระดับ 4 และ 5 ppm อาจจะเป็นเข้มข้นมากเกินไปสำหรับการเจริญเติบโตของไพล ซึ่งขัดแย้งจากความเป็นจริงคือ ไซโตไคนินจำเป็นต่อการเจริญเติบโตอย่างปกติของลำต้น และปริมาณของไซโตไคนินมักจะมีในพืชเพียงพออยู่แล้ว ดังนั้น การให้ไซโตไคนินจากภายนอกเพื่อเพิ่มการเจริญเติบโตของลำต้นอาจไม่ประสบผล ( นพคล,2537 )

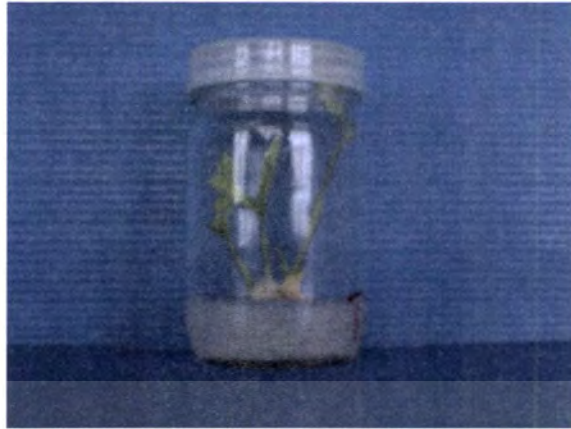


ภาพที่ 1 แสดงภาพรวมเกณฑ์การให้คะแนนการเจริญเติบโตและความแข็งแรงของไพล ในอาหารสูตร MS + BA เรียงจากซ้ายไปขวา ( การทดลองครั้งแรก )



ภาพที่ 2 แสดงระดับคะแนนเท่ากับ 1 ที่ไพลไม่มีการเจริญเติบโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 แสดงระดับคะแนนเท่ากับ 2 ที่ไหลการเจริญเติบโตปานกลาง



ภาพที่ 4 แสดงระดับคะแนนเท่ากับ 3 ที่ไหลการเจริญเติบโตดี



ภาพที่ 5 แสดงระดับคะแนนเท่ากับ 4 ที่ไหลการเจริญเติบโตดีมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงผลการแตกหน่อของไพล จาก explant ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS +BA ที่ระดับความเข้มข้นฮอร์โมน BA เท่ากับ 0 , 1 , 2 , 3 , 4 และ 5 ppm ในการทดลองครั้งที่ 2 เมื่ออายุครบ 45 วัน โดยแสดงผลเป็นระดับคะแนนการแตกหน่อของไพล

ความเข้มข้นของ BA (ppm)	ซ้ำที่ ( ระดับคะแนน )										ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
0	1	1	1	1	2	1	1	2	2	2	1.4
1	3	1	3	1	2	3	3	2	2	2	2.2
2	1	1	1	2	2	4	3	2	2	2	2
3	2	3	4	3	3	3	2	4	3	3	3
4	3	3	4	3	1	3	2	2	3	3	2.7
5	5	3	5	2	2	4	3	5	2	1	3.2

หมายเหตุ เกณฑ์การให้คะแนน

- ไม่มีการแตกหน่อจากการทดลองครั้งแรก เท่ากับ 1
- มีการแตกหน่อ 1 จากการทดลองครั้งแรก เท่ากับ 2
- มีการแตกหน่อ 2 จากการทดลองครั้งแรก เท่ากับ 3
- มีการแตกหน่อ 3 จากการทดลองครั้งแรก เท่ากับ 4
- มีการแตกหน่อมากกว่า 4 จากการทดลองครั้งแรก เท่ากับ 5

จากตารางพบว่าไพลที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีการเติมฮอร์โมน BA พบว่าไพลแทบไม่มีการแตกหน่อเพิ่มขึ้น เมื่อมีการเติมฮอร์โมน BA ในอาหารสูตร MS พบว่าไพลมีแนวโน้มสูงขึ้นในการแตกหน่อ ซึ่งในการทดลองครั้งนี้อาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 5 ppm มีการแตกหน่อเพิ่มขึ้นมากที่สุด ( 3.2 หน่อ ) รองลงมา คือ 3 , 4 , 2 , 1 และ 0 ppm ตามลำดับ เนื่องจาก BA เป็นสารในกลุ่มไซโตไคนินซึ่งมีผลต่อการแบ่งเซลล์ และกระตุ้นทางด้านข้างให้เจริญเติบโตได้ (ชวณพิศ,2544) ดังนั้นหากต้องการเพิ่มจำนวนต้นจึงควรนำไพลมาเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้นสูง

ตารางที่ 4 แสดงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไพล จาก explant ที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA ที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน BA เท่ากับ 0 , 1 , 2 , 3 , 4 และ 5 ppm ในการทดลองครั้งที่ 2 เมื่ออายุครบ 45 วัน โดยแสดงผลเป็นระดับคะแนนการเจริญเติบโตและความแข็งแรงของต้นไพล

ความเข้มข้นของ BA (ppm)	ซ้ำที่ (ระดับคะแนน)										ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
0	2	1	2.5	1	1.63	4	1.5	2.25	3.5	2	2.14
1	1.83	2.5	2.5	3	1.38	2.83	2.17	3	2.06	3.25	2.45
2	3.25	2.25	2	1.75	1.5	1.81	2.33	1.13	1.38	2	1.94
3	1.75	2	1.38	2	1.67	1.58	2.13	1	1.92	1.5	1.69
4	1	1.42	1.38	1.83	3	2.08	1.5	1.63	1.42	1.5	1.68
5	1.3	1.25	1.4	2.13	1.13	1	1.5	1	1.5	2	1.45

หมายเหตุ เกณฑ์การให้คะแนน

- ไม่มีการเจริญเติบโต เท่ากับ 1
- มีการเจริญเติบโตปานกลาง เท่ากับ 2
- มีการเจริญเติบโตดี เท่ากับ 3
- มีการเจริญเติบโตดีมาก เท่ากับ 4

จากตารางพบว่าไพลที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มีฮอร์โมน BA ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำพบว่าไพลมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น เมื่อมีการเติมฮอร์โมน BA ในอาหารสูตร MS ที่มากเกินไปพบว่าไพลแทบไม่มีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น ที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน BA 1 ppm ไพลมีการเจริญเติบโตมากที่สุด ( ระดับ 2.45 คะแนน ) รองลงมา คือ 0 , 2 , 3 , 4 และ 5 ppm ตามลำดับ เนื่องจากฮอร์โมน BA เป็นฮอร์โมนในกลุ่มของไซโตไคนิน ที่มีผลต่อการแบ่งเซลล์ และทำให้การเจริญเติบโตเกิดขึ้นโดยการส่งเสริมการยึดตัวของเซลล์ ( พีเรเดซ,2529 ) การที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน BA ที่ 1 ppm ไพลมีการเจริญเติบโตสูงสุด อาจจะเป็นเพราะว่าที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน 2 , 3 , 4 และ 5 ppm มีความเข้มข้นมากเกินไปสำหรับการเจริญเติบโตของไพล ซึ่งเป็นไปตามหลักความเป็นจริง คือ ไซโตไคนินเป็นสารที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตอย่างปกติของลำต้น และปริมาณของไซโตไคนินมักจะมีในพืชเพียงพออยู่แล้ว ดังนั้น การให้ไซโตไคนินจากภายนอกเพื่อเพิ่มการเจริญเติบโตของลำต้นอาจไม่ประสบผล ( นพคณ,2537 )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



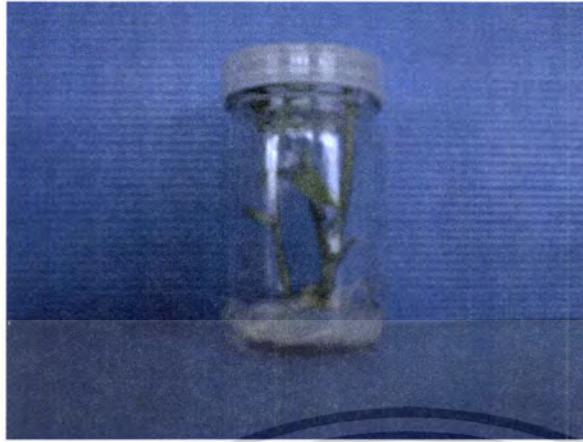
ภาพที่ 6 แสดงภาพรวมเกณฑ์การให้คะแนนการเจริญเติบโตและความแข็งแรงของไหลในอาหารสูตร MS + BA เรียงจากซ้ายไปขวา (การทดลองครั้งที่ 2)



ภาพที่ 7 แสดงระดับคะแนนเท่ากับ 1 ที่ไหลไม่มีการเจริญเติบโต



ภาพที่ 8 แสดงระดับคะแนนเท่ากับ 2 ที่ไหลการเจริญเติบโตปานกลาง  
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 9 แสดงระดับคะแนนเท่ากับ 3 ที่ไพลการเจริญเติบโตดี



ภาพที่ 10 แสดงระดับคะแนนเท่ากับ 4 ที่ไพลการเจริญเติบโตดีมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองการเจริญเติบโตของไพลเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS ที่มีฮอร์โมน BA ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0 , 1 , 2 , 3 , 4 และ 5 ppm จะเห็นได้ว่าการทดลองครั้งแรกไพลมีการเจริญเติบโตและแข็งแรงที่ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน BA เท่ากับ 3 ppm ถ้าจะดูถึงการแตกหน่อที่ระดับความเข้มข้นฮอร์โมน BA เท่ากับ 5 ppm มีการแตกหน่อได้ดีที่สุด แต่ในการทดลองครั้งที่ 2 ไพลมีการเจริญเติบโตและแข็งแรงที่ดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้นฮอร์โมน BA เท่ากับ 1 ppm ถ้าดูถึงการแตกหน่อพบว่าที่ระดับความเข้มข้นฮอร์โมน BA เท่ากับ 5 ppm มีการแตกหน่อที่ดีที่สุด

ดังนั้นหากต้องการนำไพลไปศึกษาด้านการเจริญเติบโตและความแข็งแรง ควรใช้ฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ ถ้าต้องการศึกษาการเพิ่มจำนวนต้น ควรใช้ฮอร์โมนในระดับความเข้มข้นที่สูงจึงจะได้จำนวนต้นที่มากแต่จะมีขนาดเล็ก



## เอกสารอ้างอิง

- โครงการสมุนไพรเพื่อการพึ่งตนเอง.สมุนไพรชาวบ้าน.สำนักพิมพ์ประพันธ์สาส์น.กรุงเทพฯ.
- จริงแท้ ศิริพานิชย์.2541.สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้.ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.วิทยาเขตกำแพงแสน.
- ชวนพิศ แดงสวัสดิ์.2544.สรีรวิทยาของพืช.สถาบันราชภัฏเพชรบูรณ์.
- ฐิติภาส ชิต โขติ.2530.การผลิตพันธุ์ขิงปลอดโรคโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.
- นพดล จรัสสัมฤทธิ์.2537.ฮอร์โมนพืชและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช.สำนักพิมพ์รั้วเขียว. กรุงเทพฯ.
- ประศาสตร์ เกื้อมณี.2536.เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- พีรเดช ทองอำไพ.2529.ฮอร์โมนพืชและการสังเคราะห์.ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ไพบุลย์ กวินเลิศวัฒนา.2524.หลักการและวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- รังสฤษฎ์ กาวีตะ.2540.การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ : หลักการและเทคนิค.ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วีณา เชิดบุญชาติ.2543.ปลูกผักได้ทั้งอาหารและยา.บริษัท อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด. กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์.2541.การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สิรินทร์ ไทขรวัช.2532.ปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณจิงในหลอดทดลอง.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ.

สัมพันธ์ คัมภีรานนท์.2526.ฮอร์โมนพืช.ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สัมฤทธิ์ เฟื่องจันทร์.2537.สรีวิทยาพืชสวน.ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

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

อ้อมบุญ ถ้วนรัตน์.2536.การสกัดและตรวจสอบสารสำคัญจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ.ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

อังสนา อัครพิศาล.2533 การเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์และเซลล์ สำหรับการศึกษากิจกรรมยาตอบสนองเฉียบพลันของสายพันธุ์จิงต่อเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ

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

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

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



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 แสดงการเตรียมสารละลายเข้มข้นของอาหารสูตร MS ต่อปริมาตร 1 ลิตร  
( 1000 ml )

Chemical	Concentration (g/liter stock)
<b>Stock 1</b>	
KNO <sub>3</sub>	9.5
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	82.5
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	18.5
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	8.5
<b>Stock 2</b>	
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	44
<b>Stock 3</b>	
MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	0.69
ZnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	0.614
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.62
KI	0.083
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.025
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.0025
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.0025
<b>Stock 4</b>	
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	2.785
Na <sub>2</sub> -EDTA	3.725
<b>Stock 5</b>	
Myo- inositol	10
Nicotinic acid	0.05
Pyridoxine HCl	0.05
Thiamine	0.01
Glycine	0.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนประกอบของ inorganic macronutrient , inorganic micronutrient และ organic contituants ของสูตรอาหาร Murashige and Skoog (1962) ที่ใช้ในการทดลองแสดงในภาคผนวกที่ 2 , 3 และ 4 ตามลำดับ

ตารางผนวกที่ 2 Inorganic macronutrient (mg/l)

Contituents	Murashige and Skoog
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	370
CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	440
KNO <sub>3</sub>	1,900
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1,650

ตารางผนวกที่ 3 Inorganic micronutrient (mg/l)

Contituents	Murashige and Skoog
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	27.8
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	22.3
KI	0.83
CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.025
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.6
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.025
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.2
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.25

ตารางผนวกที่ 4 Organic contituants (mg/l)

Contituents	Murashige and Skoog
Glycine	2
Na <sub>2</sub> -EDTA	37.3
Nicotinic acid	0.5
Myo- inositol	100
Vitamin B <sub>1</sub>	0.1
Vitamin B <sub>6</sub>	0.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้