



19809

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

การขยายพันธุ์เข็มม่วง แก้วเจ้าจอม และ เฮลิโคเนีย โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Propagation of  
Violet Ixora, Lignum Vitae and Heliconia by Tissue Culture

โดย

นาย อูเทน หวังเจริญ  
นางสาว ปิยา เลียงดั่ง

อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนพงศ์ ประธานกรรมการอาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

(พศ.ดร. อารมย์ ศรีนิจิตต์)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่ 14 เดือน พ.ย. พ.ศ. 2553



เลขที่.....
เลขทะเบียน..... 100362
วันเดือนปี..... 18 JUN 2009

ลพ.  
๐๘๒๖๓

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ 2533 ใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



## คำนิชม

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ วิชัย ลัมภาญจนพงศ์ ประธานกรรมการ  
อาจารย์ที่ปรึกษา ที่ได้ให้คำแนะนำ ความช่วยเหลือ ตลอดจนชี้แนวทางการแก้ไข ทำให้  
การทำปัญหาพิเศษฉบับนี้ผ่านอุปสรรคมาได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเพาะ  
เลี้ยงเนื้อเชื้อ พระราชวังจิตรลดารฯ ทุกท่านที่กรุณาให้ความรู้และเอื้อเฟื้อต้นเข็มม่วงใน  
สภาพปลอดเชื้อที่นำมาใช้ในการศึกษา ขอขอบคุณเพื่อนๆ และพี่ๆ ที่ได้ช่วยเหลือในการใช้  
เครื่องคอมพิวเตอร์พิมพ์ปัญหาพิเศษฉบับนี้จนสำเร็จได้ด้วยดี รวมทั้งเพื่อนร่วมงานที่ช่วยให้  
กำลังใจ ช่วยคิดแก้ไข แลกเปลี่ยนความคิดเห็น และเข้าใจกันด้วยดีมาตลอด

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้ความอุปการะทุกสิ่งทุกอย่าง  
เป็นอย่างดีซึ่งมาตลอด

ปัสยา เลียงดั่ง

อุเทน หวังเจริญ

มีนาคม 2533

การขยายพันธุ์ เข็มม่วง แก้วเจ้าจอม และเฮลิโคเนีย โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

## Propagation of

Violet Ixora, Lignum Vitae and Heliconia by Tissue Culture

### บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเข็มม่วง (Eranthemum nervosum) ในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้ส่วนยอดมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS สามารถทำให้มีการเจริญเติบโตทางลำต้น และใบ ได้ดีที่สุด ปริมาณรากมาก แต่การเกิดรากจะดีกว่าเมื่อใช้ส่วนลำต้นใต้ยอดที่มีตา ติดอยู่ มาเลี้ยงในอาหารสูตรเดียวกัน อาหารสูตร MS ที่เติม BA 4 mg/l จะช่วยเพิ่ม จำนวนยอดมากที่สุด รองลงมาคือ อาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 , 1 และ 0.5 mg/l และ BA 1 mg/l + NAA 0.5 mg/l ตามลำดับ และไม่มีการแตกยอดในอาหารสูตร MS

การเพาะเลี้ยงเมล็ดอ่อนแก้วเจ้าจอม (Guaianum officinale Linn.) ในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารสูตร MS เมล็ดสามารถเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนได้ดีที่สุด

การเพาะเลี้ยงธรรมรักษา (Heliconia psittacorum) พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรีนเข้มข้น 2 % นาน 60 นาที จะมีเปอร์เซ็นต์ของหน่อ ที่ปลอดเชื้อสูงที่สุด เมื่อนำไปเลี้ยงบนอาหารเหลวสูตร MS+BA 5 mg/l หน่อจะมีการเจริญเติบโตเร็วขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ การเลี้ยงบนอาหารแข็งในอาหารสูตรเดียวกัน และปรากฏว่ามีสารสีน้ำตาลรอบๆหน่อบนอาหารแข็ง ส่วนในอาหารเหลวจะมีเพียงสีน้ำตาลอ่อน การเลี้ยงในสภาพ paper bridge จะทำให้หน่อที่ได้เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลทั้งหน่อ และตายในที่สุด

## สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	12
ผล	16
วิจารณ์	43
สรุป	46
เอกสารอ้างอิง	47
ภาคผนวก	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงผลการเปรียบเทียบการเพิ่มจำนวนยอด บนอาหารสูตรต่างๆ จากส่วนยอดและส่วนลำต้นใต้ยอด ในการเพาะเลี้ยงเข็มม่วง ในสภาพปลอดเชื้อ หลังการ subculture 30 วัน	20
2	แสดงผลการเปรียบเทียบความสูงยอดใหม่ บนอาหารสูตรต่างๆ จากส่วนยอดและส่วนลำต้นใต้ยอด ในการเพาะเลี้ยงเข็มม่วง ในสภาพปลอดเชื้อ หลังการ subculture 30 วัน	22
3	แสดงผลการเปรียบเทียบความสูงของต้น บนอาหารสูตรต่างๆ จากส่วนยอดและส่วนลำต้นใต้ยอด ในการเพาะเลี้ยงเข็มม่วง ในสภาพปลอดเชื้อ หลังการ subculture 30 วัน	24
4	แสดงผลการเปรียบเทียบขนาดลำต้น บนอาหารสูตรต่างๆ จากส่วนยอดและส่วนลำต้นใต้ยอด ในการเพาะเลี้ยงเข็มม่วง ในสภาพปลอดเชื้อ หลังการ subculture 50 วัน	25
5	แสดงผลการเปรียบเทียบขนาดใบ บนอาหารสูตรต่างๆ จากส่วนยอดและส่วนลำต้นใต้ยอด ในการเพาะเลี้ยงเข็มม่วง ในสภาพปลอดเชื้อ หลังการ subculture 30 วัน	27
6	แสดงผลการเปรียบเทียบสีใบ บนอาหารสูตรต่างๆ จากส่วนยอดและส่วนลำต้นใต้ยอด ในการเพาะเลี้ยงเข็มม่วง ในสภาพปลอดเชื้อ หลังการ subculture 30 วัน	28

ตารางที่	หน้า
7 แสดงผลการเปรียบเทียบปริมาณราก บนอาหารสูตรต่างๆ จากส่วนยอดและส่วนลำต้นใต้ยอด ในการเพาะเลี้ยงเข็มม่วง ในสภาพปลอดเชื้อ หลังการ subculture 30 วัน	29
8 แสดงผลการเจริญเติบโตทางลำต้น ของการเพาะเลี้ยง เมล็ดอ่อนแก้วเจ้าจอมในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารสูตรต่างๆ	31
9 แสดงผลการเจริญเติบโตทางราก ของการเพาะเลี้ยง เมล็ดอ่อนแก้วเจ้าจอมในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารสูตรต่างๆ	33
10 แสดงผลการฟอกฆ่าเชื้อ <u>Heliconia psittacorum</u> ที่ระดับความเข้มข้นละลาย chlorox 2%, 5% และ 10% นาน 60, 30 และ 20 นาที ตามลำดับ	35
11 แสดงผลการฟอกฆ่าเชื้อ <u>Heliconia psittacorum</u> ที่ระดับความเข้มข้นละลาย chlorox 2% และ 5% นาน 60 และ 30 นาที ตามลำดับ	36
12 แสดงผลการฟอกฆ่าเชื้อ <u>Heliconia psittacorum</u> ที่ระดับความเข้มข้นละลาย chlorox 2% นาน 60 นาที	37

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงผลการเปรียบเทียบการเพิ่มจำนวนยอด บนอาหารสูตรต่างๆ จากส่วนยอดและส่วนลำต้นใต้ยอด ในการเพาะเลี้ยงเข็มม่วง ในสภาพปลอดเชื้อ หลังการ subculture 30 วัน	21
2	แสดงผลการเปรียบเทียบความสูงยอดใหม่ บนอาหารสูตรต่างๆ จากส่วนยอดและส่วนลำต้นใต้ยอด ในการเพาะเลี้ยงเข็มม่วง ในสภาพปลอดเชื้อ หลังการ subculture 30 วัน	23
3	แสดงผลการเปรียบเทียบขนาดลำต้น บนอาหารสูตรต่างๆ จากส่วนยอดและส่วนลำต้นใต้ยอด ในการเพาะเลี้ยงเข็มม่วง ในสภาพปลอดเชื้อ หลังการ subculture 50 วัน	26
4	แสดงผลการเปรียบเทียบปริมาณราก บนอาหารสูตรต่างๆ จากส่วนยอดและส่วนลำต้นใต้ยอด ในการเพาะเลี้ยงเข็มม่วง ในสภาพปลอดเชื้อ หลังการ subculture 30 วัน	30
5	แสดงผลการเจริญเติบโตทางลำต้น ของการเพาะเลี้ยง เมล็ดอ่อนแก้วเจ้าจอมในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารสูตรต่างๆ	32
6	แสดงผลการเจริญเติบโตทางราก ของการเพาะเลี้ยง เมล็ดอ่อนแก้วเจ้าจอมในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารสูตรต่างๆ	34

ภาพที่

หน้า

7	แสดงการเพิ่มจำนวนต้นจากการเลี้ยงชิ้นส่วนของเข็มม่วงในอาหาร 2 สูตร ที่มีการเพิ่มจำนวนยอดมากที่สุด	38
8	แสดงขนาดลำต้น จากการเลี้ยงส่วนยอดในอาหาร 2 สูตร ที่มีขนาดใหญ่ที่สุด	39
9	แสดงต้นเข็มม่วงที่รอดชีวิต 100 % หลังจากย้ายปลูก	40
10	ต้นเข็มม่วงที่มีลักษณะสมบูรณ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	41
11	ผลการเลี้ยงส่วนของหน่อธรรมชาติในสภาพ paper bridge	42

การขยายพันธุ์เข็มม่วง แก้วเจ้าจอม และเฮลิโคเนีย โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Propagation of

Violet Ixora, Lignum Vitae and Heliconia by Tissue Culture

คำนำ

สมัยก่อน คนไทยนิยมปลูกไม้ผลในบ้าน เพื่อรับประทานผลและเป็นไม้ประดับทางอ้อม ไม้ผลส่วนใหญ่มีรูปทรงขนาดใหญ่ซึ่งยากต่อการตัดแต่งกิ่งตามต้องการ ต่อมาจึงเริ่มคำนึงถึงความสวยงาม รวมทั้งมีอาคารใหม่ๆเกิดขึ้นอย่างมากมาย ความต้องการต้นไม้ตกแต่งประดับอาคารทั้งภายนอกและภายใน เพื่อเพิ่มคุณค่าและความสวยงามของอาคารจึงเพิ่มสูงขึ้น ไม้ผลมักไม่เหมาะแก่อาคารสถานที่ที่ต้องการการประดับสวนกิ่งดงาม ประณีตและภูมิฐาน การปลูกต้นไม้จึงควรเลือกต้นที่สามารถนำมาจัดปลูกเข้าหมวดหมู่กันได้ง่าย รูปทรงพอเหมาะ กลมกลืนกับสถานที่และตัวอาคาร ดังนั้น ความต้องการไม้ดอกไม้ประดับจึงทวีสูงขึ้นเป็นอันมาก นอกจากนี้ ค่านิยมของคนส่วนใหญ่ในการใช้ดอกไม้เนื้องานโอกาสต่างๆ ก็ทำให้วงการไม้ดอกไม้ประดับตัวสูง ประเทศไทยมีสภาพภูมิอากาศเหมาะสมต่อการปลูกไม้ดอกไม้ประดับที่สวยงามและเป็นที่นิยมหลายชนิด ทำให้มีมีลู่ทางในการส่งออกต่างประเทศมากมาย

พืชที่ใช้ศึกษาในที่นี้ ได้แก่ เข็มม่วง แก้วเจ้าจอม และเฮลิโคเนีย เป็นพืชที่สามารถใช้ในการตกแต่ง จัดสวน และประดับอาคารได้ดี เนื่องจาก เข็มม่วงมีทรงพุ่มและช่อดอกสวย แก้วเจ้าจอมมีลักษณะเป็นไม้ยืนต้นขนาดเล็ก รูปทรงกะทัดรัด ให้ร่มเงา แต่ไม่ทำให้ดูรกทึบ ส่วนเฮลิโคเนียเป็นไม้ดอกไม้สีและช่อดอกสวย อาศัยการใช้งาน ทนทาน กว้างได้รับความสะดวกมากในต่างประเทศ และในประเทศไทยก็เริ่มให้ความสนใจไม้ดอกไม้ชนิดนี้เช่นกัน

เข็มม่วงเป็นพืชที่ปลูกยาก การขยายพันธุ์เข็มม่วงและแก้วเจ้าจอมด้วยวิธีธรรมดา มักไม่ประสบผลสำเร็จ ดังนั้น ในการทดลองนี้จึงนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ ซึ่งไม่ปรากฏว่ามีรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทั้งสองตลอดจนพืชใกล้เคียงอย่างเป็นทางการมาก่อน ส่วนเฮลิโคเนีย มีเพียงการทดลองในพืชใกล้เคียงเท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**วัตถุประสงค์**

1. เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข็มม่วง เพื่อเพิ่มจำนวนต้น และได้ต้นแข็งแรงสมบูรณ์ และเปรียบเทียบชิ้นส่วนของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง
2. เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสม สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมล็ดอ่อนแก้วเจ้าจอม เพื่อได้ต้นที่แข็งแรงสมบูรณ์
3. เพื่อศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวหน่อธรรมชาติ ตลอดจนการเจริญเติบโตของหน่อผ่านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ให้ได้ต้นที่ปราศจากเชื้อโรค และมีอัตราการเจริญเติบโตที่ดี

## การตรวจเอกสาร

ปัจจุบันได้มีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มาใช้ประโยชน์ในด้านการเกษตรมากมาย เช่น ใช้ในการขยายพันธุ์เพื่อให้ได้จำนวนต้นมากมายในระยะเวลารวดเร็ว การปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้พันธุ์ใหม่ การเก็บรักษาพันธุ์ ตลอดจนใช้ในการทำให้พืชปลอดจากโรคไวรัส

แนวความคิดที่ว่า เนื้อเยื่อพืชมีเซลล์ที่สามารถทำให้เกิดสิ่งมีชีวิตเป็นรูปร่างหลายเซลล์ได้ (multicellular organism) เกิดขึ้นในปี ค.ศ.1902 โดย Haberlandt ได้พยายามนำเซลล์พืชสีเขียวของพืชดอกมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ เพื่อให้ได้ส่วนของพืชที่มีการเจริญเป็นต้นใหม่ได้ แต่ไม่ประสบความสำเร็จ แต่แนวความคิดนี้ ก็เป็นจุดเริ่มต้นของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งได้มีการทดลองต่อมา ผู้ที่ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสำเร็จเป็นคนแรกคือ Hanning ได้ทำการเลี้ยงคัพภะ (embryo culture) จากผลที่ยังอ่อน ( ไทบูลย์, 2524 )

ปัจจัยที่มีผลต่อความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีผลกระทบต่อการศึกษาทำให้เกิด morphogenesis ได้มีหลายประการ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

### 1. อาหาร

ปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโตและ morphogenesis ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ ส่วนประกอบของอาหาร มีการคิดค้นสูตรอาหารหลายชั้นเช่น White, Murashige และ Skoog และ Gamborg เป็นต้น มักใช้สูตร Murashige and Skoog (MS) ในการกระตุ้นให้เกิด morphogenesis โดยเฉพาะอาหาร B5 มักจะใช้ร่วมกับ 2,4-D เพื่อให้เซลล์เจริญอย่างรวดเร็ว โดยทั่วไปอาหารที่ใช้จะประกอบด้วยเกลือแร่คาร์บอน (C) และแหล่งพลังงาน วิตามิน และปัจจัยอื่นๆที่มีผลต่อการเจริญเติบโต ซึ่งอาจรวมสารประกอบอินทรีย์อื่นๆด้วย

### ก. แร่ธาตุ

อาหารสูตร MS ซึ่งบางที่เรียกได้ว่าเป็นอาหารที่นิยมใช้ในการศึกษาทางด้านพืชสวนมากที่สุด มีปริมาณของไนเตรต โบตัสเซียม และ แอมโมเนีย ในระดับสูง อาหารสูตร B5 ที่พัฒนามาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจำพวกถั่วก็นิยมใช้ในลักษณะที่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้ว่าห้ามการตีพิมพ์ การนำออกสู่สาธารณะโดยไม่ขออนุญาตจากเจ้าของลิขสิทธิ์ หรือการนำเอกสารนี้ไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของลิขสิทธิ์

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระดับของโปแตสเซียมในเตรตสูงเช่นกัน อาหารสูตร Schenk and Hildebrandtมีส่วนประกอบคล้ายๆกับอาหารสูตร B5 แต่มีความเข้มข้นของเกลือแร่สูงกว่าเล็กน้อย

ธาตุเหล็กเป็นองค์ประกอบของอาหารที่จำเป็นธาตุหนึ่ง สำหรับการเจริญเติบโตและ morphogenesis ของพืชหลายชนิด Nitsch ได้ทดลองให้เห็นว่าได้มีการพอร์มตัวเป็นต้นใหม่จาก microspore ของ Micotiana tabaccum เว้นแต่จะเติมธาตุเหล็กลงในอาหาร ธาตุเหล็กในรูปของซิเตรต (Citrate) และทาร์เตรต (Tartrate) ละลายน้ำยาก และอาจตกตะกอนในระยะสั้นหลังจากการเตรียมสารละลาย Murashige และ Skoog จึงใช้ EDTA chelated ของเหล็ก ช่วยแก้ปัญหานี้ได้ลุล่วง และNitschยังได้ทดลองว่า chelated form นี้ยังมีผลในการชักนำให้เกิด embryo มากกว่า ferric citrate แต่ EDTA chelates เป็นสารที่ไม่เสถียรใน liquid cultures โดยเฉพาะอย่างยิ่งหลังการอบฆ่าเชื้อ (autoclaving) และอาจจะรวมตัวกับสารประกอบอื่นๆ เกิดเป็นตะกอนภายหลัง 2-3 วัน Steiner และ Van Winden จึงได้พัฒนาเทคนิคต่างๆในการเตรียม iron chelate เพื่อมิให้เกิดตะกอนและยังเป็นประโยชน์ต่อเนื้อเยื่อพืชอีกด้วย

ข. คาร์บอน (C) และแหล่งพลังงาน

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทุกชนิด แหล่งที่ให้คาร์บอน (C) แก่พืชคือ sucrose อาจใช้ glucose และ fructose แทนได้ในบางกรณี แต่น้ำตาลชนิดอื่นๆ จะมีปริมาณคาร์บอนแก่พืชน้อย Tran Thanh Van ทำการศึกษาถึงผลของน้ำตาลหลายชนิดในระดับต่างๆที่มีต่อการเกิดดอกจากการเพาะเลี้ยงชั้นบางๆของ epidermis ของยาสูบ พบว่าที่ระดับของ saccharose ร่วมกับ glucose และ saccharose ร่วมกับ fructose เท่ากับ 1/12 M ให้ผลดีที่สุด ส่วนที่ระดับ glucose เพียงอย่างเดียวและ saccharose ร่วมกับ glucose ให้ผลเท่าเทียมกันในการชักนำให้เกิดการสร้างดอก Thorpe ทำการทดลองในยาสูบ พิสูจน์ได้ว่าความต้องการน้ำตาลแม้เพียงส่วนน้อยนั้น คือ ออสโมติก เมื่อลดระดับ sucrose ลง และให้ mannitol แทนในปริมาณน้ำหนักที่สมมูลย์กับแรงดันออสโมติก ก็จะไม่มีการลดปริมาณการเกิดยอด อย่างไรก็ตามเมื่อไม่มีการเติม mannitol ปรากฏว่าการสร้างยอดใหม่ลดลงการให้ค่าความดันออสโมติกต่ำกว่า 2 % หรือสูงกว่า 4 % เป็นสาเหตุในการลดการเกิดยอดอย่างมีนัยสำคัญ ในทางขัดแย้งกัน Barg และ Umiel รายงานว่า แคลลัสของยาสูบที่เจริญบนอาหารที่มีระดับน้ำตาลต่ำมาก (1 %) มีสีเขียวเข้มและผลิตยอดจำนวนมากในระยะอันสั้นผลของเขทั้งสองและของ Thorpe อาจเนื่องจากความแตกต่างใน genotypes ที่ใช้ในการศึกษา หรือ เนื่องจากชนิดและระดับของสารควบคุมการเจริญ

ไม่ทราบแน่ชัดว่า ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เติบโตที่ใช้ sucrose ในปริมาณสูงๆสามารถที่จะยับยั้ง Organogenesis ในพืชตระกูล Liliaceae ได้ พบว่าที่ระดับ Sucrose 30 g/l นั้น ต้นที่รอดชีวิตจะมีการสร้างbulblets ได้ 100 % แต่ที่ระดับความเข้มข้น 90 g/l จะมีต้นเพียง 3 ใน 28 เท่านั้น ที่สามารถสร้าง bulblets ได้ ซึ่งที่เหลือนอกนั้นสร้างแคลลัส นอกจากนี้ sucrose ในปริมาณสูงอาจกระตุ้นการเกิดรากได้เช่น ที่ระดับความเข้มข้น 90 g/l จะไปเพิ่มน้ำหนักแห้งของรากใน Lilium และใน Episcia การเกิดรากจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อเติม sucrose 30 g/l ลงในอาหารในระยะที่ 3

### ค. วิตามิน

วิตามินส่วนใหญ่ไม่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของแคลลัสในอาหารที่ไม่เติม Pyridoxine nicotinic acid และ biotin ก็ไม่มีผลต่อการเจริญลดลงของ Riboflavin ให้ผลยับยั้งการเจริญเติบโต ถึงแม้ Folic acid และ p-amino-benzoid acid (PABA) จะเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตให้สูงขึ้น แต่ก็ไม่จำเป็นต่อพืช นัก ส่วนวิตามินที่จำเป็นต่อพืช เช่น Thiamine จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของ callus ยาสูบ โดยปกติจะใช้ในอาหารเพาะเลี้ยงความเข้มข้นระหว่าง 0.1 - 1 mg/l อีกชนิดหนึ่งที่นิยมใช้คือ ascorbic acid ซึ่งเพิ่มการเจริญเติบโตของพืชได้

### ง. สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

Skoog และ Miller ( 1957 ) พบว่า การพัฒนาเป็นต้นหรือรากของเนื้อเยื่อ ขึ้นอยู่กับความสมดุลอัตราส่วนของออกซินและไซโตไคนิน (auxin cytokinin ratio ) ถ้าอัตราส่วนสูงกว่าสมดุล เนื้อเยื่อจะมีการเจริญไปเป็นแคลลัส แต่ถ้าอัตราส่วนต่ำกว่าสมดุล ก็จะมีการเจริญไปเป็นยอดเพียงอย่างเดียว

ออกซินที่นำมาใช้ประโยชน์ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น 3-indole-acetic acid ( IAA ), 3-indolebutyric acid ( IBA ), 2,4-dichlorophenoxy acetic acid ( 2,4-D ), 2,4,5-Trichlorophenoxyacetic acid ( 2,4,5-T ) 4-chlorophenoxyacetic acid ( CPA ) และ 4-amino-3,5,6-trichlorotricolonic acid ( Pichloram หรือ TCP ) Cytokinin เช่น 6-benzyladenine ( BA ) 6-benzylamino purine ( BAP ) 6-Y-Y-dimethylallylaminopurine ( 2iP ) isopentenyladenine ( IPA ) , 6-furfuryl-aminopurine ( kinitin ) และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้า ไม่สามารถนำไปทำประโยชน์ด้านธุรกิจ  
ไม่วารณใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6-( 4-hydroxy-3-methyl-trans-2-butenylamino ) purine( Zeatin )  
( Hughes, 1980 )

Rao ( 1973 ) รายงานผลการทดลองว่า จะเกิด embryo จากส่วน  
ของลำต้นและใบของ Petunia inflata ที่ระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ตั้งแต่  
100 - 2,000  $\mu\text{g/l}$  โดยจะให้ผลดีที่สุดที่ระดับความเข้มข้น 200  $\mu\text{g/l}$  และ 500  $\mu\text{g/l}$   
แต่ถ้าขาด 2,4-D แล้วจะไม่เกิด embryo เลย

Szweykowska ( 1974 ) กล่าวถึงบทบาทของไซโตไคนินในการควบคุมการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยมีผลต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์ด้วยวิธีการแบ่งเซลล์ ( cell division ) และการแปรสภาพของเซลล์ ( cell differentiation )

Mok ( 1979 ) กล่าวว่าไซโตไคนิน ที่เจาะจงกับแบบของยีนอยู่ภายใต้การควบคุมทางพันธุกรรมโดยยีนและยีนนั้นมีจำนวนน้อยมาก ในการศึกษาในพืชชนิดหนึ่ง ( Phaseolus lunatus )

## 2. ชิ้นส่วนของพืช

ส่วนของพืชที่เล็กมากมีอัตราการรอดชีวิตต่ำในการเพาะเลี้ยง ขนาดของชิ้นส่วนพืชที่นำมาใช้ไม่เป็นที่ปัญหาเท่าใดนักถ้าวัตถุประสงค์ของการเพาะเลี้ยงไม่ได้เป็นไปเพื่อต้องการพืชที่ปราศจากเชื้อไวรัส ครั้งหนึ่งเชื่อกันว่าบริเวณที่เป็น apical meristem ปราศจากเชื้อไวรัส แต่จากการศึกษาเมื่อเร็ว ๆ นี้ได้พิสูจน์ว่า อาจพบเชื้อไวรัสได้ แม้แต่บริเวณที่เป็นเนื้อเยื่อ meristem ก็ตาม ไวรัสจะเพิ่มปริมาณในเนื้อเยื่อส่วนล่างขึ้นไปจนถึง apical meristem พืชที่ปราศจากเชื้อไวรัสนี้จึงอาจได้จากการใช้ส่วน stem apices ที่เล็กมากมายมาเพาะเลี้ยงโดยทำควบคู่กับวิธีการใช้ความร้อนเพื่อกำจัดไวรัสที่อาจหลงเหลืออยู่ แต่จะมีอัตราการรอดชีวิตต่ำ

## 3. แหล่งที่มาของชิ้นส่วนพืช

ส่วนของพืชที่จะนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงในพืชแต่ละชนิดให้ผลแตกต่างกันและมีความสามารถที่จะเจริญภายใต้ขบวนการ morphogenesis แตกต่างกันด้วย ( Hughes, 1980 )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Takayama และ Misawa ( 1979 ) ได้ตรวจสอบความสามารถของส่วนต่างๆของ Lilium auratum และ Lilium speciosum ในการสร้างหัว(bulbs)ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยนำส่วนใบ ก้านช่อดอก เปลือกหัว กลีบดอก อับละอองเกสรตัวผู้ และจากเปลือกของหัวที่เจริญมาจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า ส่วนก้านช่อดอก กลีบดอก และเปลือกหัว มีเปอร์เซ็นต์ของการสร้างหัว(bulbs)ได้เป็น 50, 75 และ 95 ตามลำดับ ในขณะที่ชิ้นส่วนพืชที่นำมาจากหัวที่เจริญมาจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นมีการสร้างหัว(bulbs)ได้ 100 %

ภิรพงษ์ ( 2528 ) ศึกษาการขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันโดยใช้เทคนิคการเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยนำเนื้อเยื่อจากส่วนต่างๆ เช่น ใบอ่อน ราก และตายอดที่ได้จากการเลี้ยงคัพภะในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า แคลลัสจะได้จากใบอ่อน ราก และคัพภะมีการเจริญค่อนข้างช้า โดยแคลลัสที่ได้จากใบอ่อนมีอัตราการเจริญเติบโตเร็วกว่าแคลลัสที่ได้จากรากและคัพภะ

#### 4. อายุของชิ้นส่วนพืช

อายุของชิ้นส่วนพืชมีอิทธิพลต่อแบบและขอบเขตของ morphogenesis เนื้อเยื่อที่มีการเปลี่ยนแปลงน้อยและอ่อนเยาว์ที่สุดจะพบได้ในส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อเจริญ และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนนี้ได้ประสบความสำเร็จอย่างกว้างขวางในพืชหลายชนิด เนื้อเยื่อที่เยาว์วัยนี้มีความสามารถในการเกิด morphogenesis ได้สูงกว่าเนื้อเยื่อที่แก่กว่า (Hughes, 1980 )

#### 5. แสง

ปัจจุบันมีรายละเอียดเกี่ยวกับความต้องการแสงในการเพาะเลี้ยงอวัยวะต่างๆของพืชเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

" rule of thumb " โดยให้ shoot tip หรือ lateral bud ที่นำมาเพาะเลี้ยงภายใต้หลอดglolux ที่ 100 fc หรือ cool-white fluorescent เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสงต่ำสุดที่พืชต้องการในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออาจแตกต่างจากความต้องการของพืชเองก็ได้ ในระยะที่ 1 หรือ 2 ควรมีความเข้มแสงประมาณ 1000 lux สำหรับระยะที่ 3 ควรอยู่ในระหว่าง 3000 - 10000 lux ส่วนความเข้มแสงที่สูงกว่านี้ ควรใช้กับพืชที่รอดชีวิตจากการย้ายปลูกลงดิน ( Murashige, 1974 )

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถ้าไม่มีรายละเอียดเพิ่มเติมก็สามารถใช้สภาพแวดล้อมนี้เป็นจุดเริ่มต้นในการเพิ่มจำนวนอวัยวะในการขยายพันธุ์พืช จึงควรทำการทดสอบชนิดของหลอดทดลองจนความเข้มของแสงที่เหมาะสมต่อพืช คุณสมบัติของแสงที่มีอิทธิพลต่อพืชโดยทั่วไปแล้ว ยังมีผลกระทบต่อเนื้อเยื่อพืชในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นด้วยโดยต้องการเพียงระดับความเข้มของแสงต่ำเท่านั้น เพื่อให้ขบวนการ morphogenesis เป็นไปตามกำหนด ( Seibert และ Kadkade, 1980 )

## 6. อุณหภูมิ

การศึกษาระยะแรกๆในการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืช กล่าวไว้ว่า อุณหภูมิต่ำสุด ควรอยู่ในระหว่าง 25 - 30 องศาเซลเซียส แต่ก็มีหลายชนิดที่ต้องการแตกต่างกัน เมล็ดบางชนิดมีการพักตัว จึงต้องการความเย็นช่วงเวลาหนึ่ง เพื่อให้พ้นระยะพักตัว ( Martin, 1980 )

## 7. Subculture

การ subculture เพื่อขยายจำนวนแคลลัส จะทำให้ลดความสามารถในการเกิด morphogenesis ( Tran Thanh Van, 1981 )

Hughes ( 1980 ) อธิบายถึงสาเหตุดังกล่าวว่าเกิดจาก

1. การผลิตยอดจากแคลลัสอาจเกิดจาก organized centers ของการแบ่งเซลล์
2. ปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตภายในพืชลดลง
3. มีการเพิ่มโครโมโซมผิดปกติ ซึ่งอาจไปยับยั้งขบวนการพัฒนาของเนื้อเยื่อ

เข็มน่วงมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า Eranthemum nervosum R.Br. อยู่ในวงศ์ Acanthaceae ซึ่งอยู่ในวงศ์เดียวกับใบเงิน ใบทอง ดาดตะกั่ว ใบนวด บางเล่มก็จัดอยู่ในวงศ์ Rubiaceae ( The Madder Family ) มีชื่อสามัญว่า Violet Ixora นอกจากนี้ยังมีชื่อเรียกอื่นๆอีกเช่น เข็มพญาอินทร์ และเข็มเขี้ยว บางเล่มจัดอยู่ในตระกูลเดียวกับเข็มพวง ( E. ciliatum ) บางเล่มจัดอยู่ในตระกูลเดียวกับหญ้าข้อ

( E. unioliodus )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### ลักษณะอื่นๆ

ต้น : เป็นพันธุ์ไม้พุ่มทรงเตี้ย ลำต้นสูงประมาณ 4 ฟุต ลำต้นเล็ก เป็นไม้เนื้อเปราะ มีหน่อลำต้นแตกจากรากมากมายทำให้ดูเป็นพุ่มทึบ

ใบ : สีเขียวชะอุ่ม ดอก หนา มีลักษณะยาวและแหลมคล้ายใบกระท่อม เส้นแวงบนใบมีสีน้ำตาล เส้นแขนงใบเป็นร่องเห็นได้ชัด มีระเบียบ ใบสาก ใบจะออกเป็นคู่ตามข้อต้น แต่ละคู่จะสลับกันยาวประมาณ 5 - 6 นิ้ว

ดอก : สีม่วงครามสดสวย ออกดอกเป็นช่อตั้ง อยู่ตามยอดเหมือนดอกเข็ม แต่ไม่เป็นกลุ่มทรงกลมอย่างดอกเข็ม ดอกจะทยอยกันออกครั้งละหลายๆดอก ช่อของดอกยาวประมาณ 5 - 6 นิ้ว ลักษณะของหลอดยาว 2 - 3 เซนติเมตร มี 4 กลีบ หรือ 2 คู่แผด มีกลิ่นหอมอ่อนๆ แต่จะบานอยู่ได้ไม่นาน

### การขยายพันธุ์

เข็มม่วงเป็นพันธุ์ไม้ที่ปลุกยาก ขยายพันธุ์ได้ด้วยวิธีตัดกิ่งและราก ปักชำ หรือ การตอน เจริญได้ดีในดินร่วนปนทรายหรือดินที่มีส่วนผสมของปุ๋ยหรือใบไม้ผุ อยู่ในที่มีแดดรำไร ต้องการความชื้นพอประมาณ ปริมาณน้ำปานกลาง

### อื่นๆ

ต้นไม้นี้ชนิดนี้มีถิ่นกำเนิดมาจากอินเดีย บางเล่มก็กล่าวว่า เป็นพันธุ์ไม้ป่าของเมืองไทย ส่วนมากมักพบขึ้นอยู่ตามป่าไม้ทางภาคใต้ของไทย ชื่อ " เข็มพญาอินทร์ " นี้ เข้าใจว่าหลวงบุเรศบำรุงการเป็นผู้ตั้ง ( กองบรรณาธิการวารสารบ้านและสวน, 2525 ) ( วิทย์, 2530 ; Graf, 1970 ; Graf, 1981 )

แก้วเจ้าจอม ( *Lignum Vitae* ) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Guaiacum officinale* Linn. อยู่ในวงศ์ *Zygophyllaceae* แหล่งกำเนิดอยู่ที่ West Indies เป็นไม้ยืนต้นสูงประมาณ 10 - 15 เมตร ลำต้นคดๆงอๆ ใบเป็นใบรวมขนาดเล็ก รูปไข่ ออกเป็นคู่ๆ ให้ร่มมากเพราะใบหนาทึบ ดอกสีฟ้า 5 กลีบ ออกดอกปลายกิ่งในเดือนกันยายนถึงมกราคม ขยายพันธุ์โดยการใช้เมล็ด ( อำนวย, 2519 )

แก้วเจ้าจอมเป็นไม้เนื้อแข็งมาก สีน้ำตาลอมเขียว ใบมีขนาด 2 นิ้ว ดอกมีขนาดเล็กอยู่ปลายกิ่ง ( Graf, 1970 )

วงศ์ *Heliconiaceae* ( วงศ์กล้วยก้ามกึ่ง ก้ามกึ่ง และก้ามปู ) มี 1 สกุล และ 120 ชนิด มีชื่อเรียกทั่วไปว่า *Lobster's Claw* หรือ *Crab's Claw* ลักษณะใบเป็นรูปโล่ มีทั้งชนิดดอกตั้งและช่อห้อย รูปร่างคล้ายก้ามกึ่งหรือก้ามกึ่ง ต้นที่เรียกว่า

" ธรรมชาติ " ก็จัดอยู่ในวงศ์นี้ด้วย สีของดอกมักปรากฏชัดเจนบนกาบหุ้มดอก เช่น เหลือง แดง ส้ม แสด ตลอดจนเหลืองสองสี เช่น เหลืองนวลขลิบสีแสดส้ม เป็นต้น ต้นที่ออกดอกแล้ว จะตายไปหน่อใหม่จะเกิดแทนที่ ต้นหนึ่งๆจะมีช่อดอกเดี่ยวๆ ก้านดอกยาว แต่ละดอกมีกลีบเลี้ยง 2 กลีบ กลีบดอก 3 กลีบหรือมากกว่า มีบางส่วนที่ไม่เชื่อมติดกัน กลีบเลี้ยงกลีบที่ 3 อยู่เป็นอิสระหรือเป็นคู่ แผ่นกลีบหนา มีเกสรตัวผู้ 5 อันขนาดเล็กอยู่ติดกับกลีบดอก ผลเป็นแบบแคปซูลมี 2 - 3 เมล็ด เป็นพันธุ์ที่มีแหล่งกำเนิดในเขตร้อนทั่วไป

คำว่า *Heliconia* มาจากคำว่า *Helicon* หมายถึงขุนเขาอันเป็นสิ่งสถิตของเทพแห่งศิลปวิทยาทั้ง 9 (The Mountain of Muses)

กล้วยก้ามกึ่ง เป็นพืชประดับที่ชอบน้ำมาก เจริญงอกงามได้ดีในดินทุกชนิด แต่ดินที่ดีที่สุดคือ ดินเหนียวปนทรายและมีอินทรีย์วัตถุมากๆ ถ้าจะปลูกในแปลงกลางแจ้งจำเป็นต้องใส่ปุ๋ยคอก ปุ๋ยอินทรีย์และใบไม้ผุ เศษหญ้าแห้งลงกันหลุม หรือเศษหญ้าที่ตัดจากสนามคลุมโคนต้น ควรขจัดต้นที่ออกดอกและร่วงโรยไปแล้ว เพราะเป็นกาฝากคอยดูดน้ำเลี้ยงจากหน่ออื่นเท่านั้น การขยายพันธุ์นั้นทั่วไปนิยมขยายพันธุ์ด้วยหน่อโดยแยกเหง้า (root-stock) ให้มีหน่อที่โผล่พ้นดินติดมากับเหง้า 1 หน่อ แล้วนำไปปลูกชำในที่ที่เตรียมไว้ ส่วนการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดนั้นต้องนำเมล็ดมาแช่น้ำไว้ 24 ชั่วโมงแล้วจึงใช้ตะไบถูบริเวณงอกที่เป็นช่วงงอกให้มันเสียก่อน จะช่วยให้การงอกรวดเร็วยิ่งขึ้น เพราะเมล็ดพืชเหล่านี้มีเปลือกแข็งและงอกช้าโดยธรรมชาติอยู่แล้ว เมื่องอกเป็นต้นอ่อนสูงประมาณ 8 นิ้ว จึงนำไปปลูกในกระถางหรือฤๅลาสติกอีกทีหนึ่ง และอนุบาลไว้ในที่รำไรจนกว่าความสูงและอายุจะได้ขนาด จึงนำไปปลูกลงดินอีกทีหนึ่ง

พืชในสกุล *Heliconia* เช่น

ชูมาลย์ (*H. marginata*) มีถิ่นกำเนิดในเวเนซุเอลา สูงถึง 2 เมตร ใบแคบยาวชูตั้ง ชูดอก ความยาวประมาณ 30 - 40 เซนติเมตร กลีบประดับสีแดง ส่วนปลายกลีบสีเหลือง ส่วนดอกสีเหลือง

ชูขวัญ (*H. caribaea* 'Purpurea') มีใบยาว 90 เซนติเมตรหรือยาวกว่า ฐานใบมนคล้ายใบกล้วยน้ำว้า ลำต้นตรง ช่อดอกตั้ง กลีบประดับเรียงตัวซ้อนรัดกันแน่นสีแดงสดเหลืองด้วยสีเหลืองริมกลีบ

ชุกท้าย (*H. humilis*) มีชื่อสามัญว่า " Lobster's Claw " หรือกล้วยก้ามกึ่ง (กึ่งทะเลขนาดใหญ่) ลักษณะคล้ายกับ *H. bihai* และน่าจะเป็นสายพันธุ์เดียวกันนี้

เดียวกัน แต่ชนิดนี้มีใบสีเขียวเป็นมัน และมีขนาดเล็กกว่า ดอกสีแดงสด กลีบประดับรูปคล้ายเรือสีเขียว ส่วนปลายกลีบเหลื่อมด้วยสีเขียวอมเหลืองริมขอบกลีบ ดอกสีขาวอมเหลือง

ชูส์วัสดี (H. distans) มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปอเมริกาใต้ ลำต้นยาว ขึ้นเป็นกอ ใบสีเขียวสดใส มีกลีบเลี้ยงสีเขียวเหลืองมะนาวอยู่ที่ฐานใบ ยอดและปลายใบมีสีแดงเลือดหมู

ชูจิต (H. collinsiana) มีถิ่นกำเนิดอยู่ในกัวเตมาลา เป็นพืชที่มีอายุยืนทนทาน ใบเขียวชุ่ม สูง 3 เมตร ผลใหญ่ลักษณะคล้ายใบดองสีเขียวอ่อน ก้านหนา ข้อดอกเด่นสะดุดตาห้อยลงมาใต้ใบ ใบประดับสีแดงเข้มแผ่กว้างเกือบตั้งฉากกับลำต้นมีวอลปกคลุม ตอนปลายมีสีเหลืองสด ดอกเป็นสีครีม อีกต้นหนึ่งมีลักษณะทั่วไปเหมือนกัน

ชูโจน (H. choconiana) มีถิ่นกำเนิดอยู่ในกัวเตมาลา ขึ้นเป็นกลุ่ม ตั้งสูง 90 เซนติเมตร ลำต้นเรียวคล้ายไม้รวก ใบรูปใบพายยาว แผ่นใบบาง เนื้อละเอียดเหมือนแผ่นหนัง ดอกเป็นช่อไม่มีก้านดอก ใบประดับสีส้มปนสีแดงเข้ม ตอนปลายเป็นสีเหลืองวาวอ่อน

ชูบั้งอร (H. psittacorum) มีถิ่นกำเนิดแถบชายฝั่งทะเลของกัวเตมาลา และบราซิล เรียกชื่อสามัญว่า " Parrot Flower " เป็นพืชที่มีลำต้นยาว อายุยืน ใบรูปหอกแคบ เนื้อละเอียดคล้ายแผ่นหนัง สีเขียวเข้ม ก้านชูดอกสีส้มสว่างสดใส ใบประดับขาวแหลม ปลายใบสีแดง ดอกสีเหลืองอมเขียว มีจุดสีดำใกล้ปลายยอด เป็นพืชในเขตร้อน

( กองบรรณาธิการวารสารบ้านและสวน, 2525 )

## อุปกรณ์และวิธีการ

### อุปกรณ์

1. พืชทดลอง คือ ต้นเข็มม่วงที่ได้จาก clean culture เมล็ดอ่อนแก้วเจ้าจอม และหน่อธรรมรักษา
  2. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร
    - 2.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962 )
    - 2.2 สารเคมีควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่
      - IAA ( Indole acetic acid )
      - BA ( 6 - benzyl amino purine )
      - NAA (  $\alpha$  - naphthalene acetic acid )
      - Kinetin ( 6 - furfurylamino purine )
    - 2.3 อื่นๆ ได้แก่ Ascorbic acid น้ำตาล น้ำกลั่น วันผง
  3. เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร ได้แก่ เครื่องแก้วที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น กระบอกตวง บีกเกอร์ ปิเปตต์ ขวดแก้วใส่อาหารพร้อมฝาปิด เครื่องชั่งละเอียด เครื่องชั่งหยาบ เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง หม้อนึ่งความดัน
  4. สารเคมีที่ใช้ฆ่าเชื้อ ได้แก่ คลอรีน โซลาริออล ( Teepol ) เอทิล-แอลกอฮอล์
  5. เครื่องมือที่ใช้ในการย้ายชิ้นส่วนพืช ได้แก่ ตู้อบลอดเชื้อ (bioclean) มีดผ่าตัด ปากคีบ ตะเกียงแก๊ส จานแก้ว
  6. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่สามารถควบคุมอุณหภูมิ 25 - 28 องศาเซลเซียส ให้แสงหลอดฟลูออเรสเซนต์ ที่มีความเข้มของแสงประมาณ 3000 lux 16 ชั่วโมง และไม่มีแสง 8 ชั่วโมง ซึ่งควบคุมการปิดเปิดไฟด้วยเครื่องอัตโนมัติ
  7. กล้องถ่ายรูปและอุปกรณ์
  8. อุปกรณ์ที่ใช้ในการย้ายปลูก เช่น ตะกร้า เครื่องปลูก สารเคมี สารกำจัดเชื้อรา เป็นต้น
  9. อื่นๆ เช่น กระดาษรองพื้น กระดาษสำหรับทำ paper bridge
- เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า (MS) รายละเอียดอาหารสูตร Murashige and Skoog แสดงในภาคผนวก ตารางที่ 1

วิธีการการเพาะเลี้ยงเชื้อหมักในสภาพปลอดเชื้อตอน 1 การขยายพันธุ์

1. นำต้นเชื้อหมักที่ได้จาก clean culture มา sub culture เพื่อขยายพันธุ์ โดยแยกเป็น 2 ส่วน คือ 1. ส่วนยอด

2. ส่วนลำต้น (ส่วนที่อยู่ต่ำกว่ายอด) ความยาว 1-2 ซม  
แล้วนำต้นที่ได้ไปเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆดังนี้

MS + BA	0	mg/l
MS + BA	0.5	mg/l
MS + BA	1	mg/l
MS + BA	2	mg/l
MS + BA	4	mg/l
MS + BA	1	mg/l + NAA 0.1 mg/l

แต่ละสูตรทำ 16 ขวด แยกเป็นขวดที่ใช้ส่วนยอดมาเลี้ยง 8 ขวด และ ส่วนลำต้นโตยอด 8 ขวด โดยทำการทดลองซ้ำเช่นเดียวกัน 3 ครั้ง

3. นำไปไว้ภายใต้สภาพความเข้มแสง 3,000 lux เป็นเวลา 16 ชั่วโมงในห้องเพาะเลี้ยง ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 3$  องศาเซลเซียส

4. ตรวจสอบผลการทดลอง หลังจาก subculture เป็นเวลา 30 วัน ดังหัวข้อต่อไปนี้

จำนวนยอดที่แตกขึ้นใหม่ โดยการนับจำนวน

ความสูงของยอดใหม่ โดยการวัดความสูง

ความสูงของต้น โดยการวัดความสูง

ขนาดของลำต้น โดยการให้คะแนน 1 = ลำต้นขนาดเล็ก

คะแนน 2 = ลำต้นขนาดกลาง

คะแนน 3 = ลำต้นขนาดใหญ่

ขนาดของใบ โดยการให้คะแนน 1 = ใบสีเขียวอ่อน

คะแนน 2 = ใบสีเขียว

คะแนน 3 = ใบสีเขียวเข้ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาติให้อ่านโดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ปริมาณราก โดยการนับจำนวนราก

เปรียบเทียบในสูตรอาหารต่างๆ และเปรียบเทียบการใช้ส่วนยอดและส่วนลำต้นใต้ยอดมาเลี้ยง ถ้าหัวข้อในการตรวจผลการทดลอง ไม่สามารถเห็นความแตกต่างได้ภายในเวลา 30 วัน ก็สามารถตรวจผลการทดลองหลังการ subculture 50 วัน

### ตอน 2 การย้ายปลูก

1. นำต้นมีอายุ 50 วันหลังจากการ subculture ที่มีความสมบูรณ์ แข็งแรง มีรากพอประมาณ พร้อมออกปลูก มาล้างวันออกให้หมด จากนั้นแช่ในสารเคมีกำจัดเชื้อรา นาน 2 - 3 นาที
2. ปลูกในดินที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วในกระบะพลาสติก
3. คลุมถุงพลาสติก และให้ความชื้นตลอดเวลา เป็นเวลา 1 สัปดาห์
4. เปิดถุงพลาสติกที่คลุมออก เมื่อต้นตั้งตัวได้แล้วจึงแยกปลูกลงถุง
5. ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเป็นต้นที่แข็งแรง

### การเพาะเลี้ยงเมล็ดอ่อนแก้วเจ้าจอมภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

1. ตัดเลือกเมล็ดอ่อน 50 เมล็ด นำมาล้างให้สะอาด แยกเปลือกหุ้มเมล็ดออก
2. ฟอกด้วยสารละลายคลอรีน 10 % ที่เติมสารละลาย Teepol ประมาณ 3-4 หยด
3. ล้างออกด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ
4. นำเมล็ดที่ผ่านการฟอกแล้วมาตัดขวางเป็น 2 ส่วน เลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ ดังนี้

1/2 MS

MS

MS + IAA 1 mg/l

MS + Kinetin 2 mg/l + IAA 0.5 mg/l

โดยศึกษาการเจริญเติบโตบนอาหารสูตรต่างๆ และเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเมล็ดทั้งสองส่วนหลังจากการเพาะเลี้ยง 9 วัน สัปดาห์ละ 2 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Heliconia

1. นำหน่อธรรมชาติมาตัดแต่งให้เหลือแต่ส่วนของหน่อที่มีขนาด 1 - 2 นิ้ว ล้างให้สะอาด
2. แช่ในสารเคมีกำจัดเชื้อราเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง พร้อมกับให้ออกซิเจนด้วยเครื่องเป่าตลอดเวลา
3. นำไปแช่ในน้ำยาแกมมาแคทีเรียม ( tetracyclin ) เป็นเวลา 10 นาที
4. นำส่วนที่ได้ไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอโรกซ์+สารละลาย Teepol 2 - 3 หยด ที่ระดับความเข้มข้น 2 % , 5 % และ 10 % เป็นเวลานาน 60, 30 และ 20 นาที ตามลำดับ บนเครื่องเขย่า
5. ตัดแต่งส่วนที่สัมผัสกับสารละลายคลอโรกซ์ออกบางส่วน
6. ล้างด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง
7. นำหน่อมาตัดแต่ง ลอกกาบหุ้มหน่ออีกครั้งหนึ่งเหลือเฉพาะส่วนของหน่อขนาด 0.3 - 0.5 เซนติเมตร
8. นำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS + BA 5 mg/l + ascorbic acid 10 mg/l  
MS + BA 10 mg/l + ascorbic acid 10 mg/l
9. ตรวจสอบผลการทดลองเพื่อดูเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและเปรียบเทียบสูตรอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ผลการทดลอง

การเพาะเลี้ยงเชื้อหมักในสภาพปลอดเชื้อตอนที่1 การขยายพันธุ์

จากการทดลอง 3 ครั้งๆ 8 ข้ำ ตรวจผลการทดลองหลังจาก subculture 30 วันหาค่าเฉลี่ยทั้ง 3 ครั้งเปรียบเทียบกับสูตรอาหารและชิ้นส่วนของพืชที่ใช้ (ส่วนยอดและส่วนลำต้นไต้ยอดที่มีตาติดอยู่) ได้ผลดังนี้

การเพิ่มจำนวนยอด

ผลการใช้ส่วนยอดและส่วนลำต้นไต้ยอดมาเลี้ยงในอาหารต่างๆ (ตารางที่1และรูปที่1)พบว่าส่วนยอดและส่วนลำต้นที่เจริญบนอาหารสูตร MS+BA 4 mg/l ต่างก็มีการเพิ่มจำนวนยอดได้มากที่สุด โดยที่ส่วนยอดจะมีจำนวนยอดใหม่มากกว่า จำนวนยอดใหม่ที่ได้จากส่วนยอดและส่วนลำต้นไต้ยอดที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS+BA 4 mg/l นี้มีค่าเท่ากับ 3.4 และ 2.08 ยอดตามลำดับ รองลงมาคือสูตร MS+BA 2 mg/l, MS+BA 1 mg/l ส่วนในอาหารสูตร MS+BA 0.5 mg/l และ MS+BA 1 mg/l + NAA 0.1 mg/l จะมีจำนวนยอดใหม่ใกล้เคียงกันมากเป็นอันดับ 4 และส่วนลำต้นไต้ยอดมีการแตกยอดมากกว่าส่วนยอด ในขณะที่ไม่มีการแตกยอดใหม่เลยในอาหารสูตร MS

ความสูงของยอดใหม่

ส่วนยอดที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA 4 mg/l ซึ่งมีการแตกยอดมากที่สุด จะมีความสูงของยอดใหม่ต่ำที่สุดประมาณ 0.38 เซนติเมตรในขณะที่ในอาหารสูตร MS + BA 1 mg/l + NAA 0.1 mg/l มีการแตกยอดน้อยที่สุด(ยกเว้นสูตร MS ที่ไม่มีการแตกยอด) กลับมีความสูงของยอดใหม่มากกว่า แต่จากการนำส่วนลำต้นไต้ยอดไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS + BA 4 mg/l ซึ่งมีการแตกยอดมากที่สุดจะมีความสูงของยอดใหม่สูงสุดเช่นกัน และในอาหารสูตร MS + BA 0.5 mg/l มีความสูงต่ำสุด (ตารางที่2 )

ยอดใหม่ที่ได้จากการเลี้ยงส่วนลำต้นไต้ยอดมีความสูงมากกว่าที่ได้จากส่วนยอดในอาหารสูตร MS + BA 4 mg/l ที่มีการแตกยอดมากที่สุด ทั้งๆที่ในอาหารสูตรอื่นๆให้ผลตรงข้ามกัน (รูปที่ 2 )

ความสูงของลำต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์อื่นใด  
จากการทดลองพบว่า ต้นที่ได้จากการเลี้ยงส่วนยอดจะมีความสูงมากกว่าต้นที่ได้  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีเหตุผลแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากส่วนลำต้นไต้ยอดในอาหารทุกสูตร (ตารางที่ 3) ส่วนยอดและส่วนลำต้นไต้ยอดในอาหารสูตร MS + BA 2 mg/l มีความสูงของต้นมากที่สุด ส่วนสูตร MS จะให้ผลใกล้เคียงกัน ลำต้นของส่วนยอดและส่วนลำต้นไต้ยอด จะเตี้ยที่สุดเมื่อได้รับอาหารสูตร MS+BA 4 mg/l และ MS + BA 1 mg/l ตามลำดับ

#### ขนาดของลำต้น

หลังจากการ subculture เป็นเวลา 30 วัน ลำต้นของเข็มม่วงในอาหารแต่ละสูตรมีขนาดใกล้เคียงกันมาก ไม่สามารถมองเห็นความแตกต่างได้ จึงทำการวัดผลหลังการ subculture 50 วัน โดยการให้คะแนน (ตารางที่ 4)

ส่วนยอดที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS และ MS+BA 0.5 mg/l จะได้ขนาดของลำต้นค่อนข้างใหญ่ (รูปที่ 8) โดยที่ในอาหารสูตร MS+BA 1 mg/l+NAA 0.1 mg/l และ MS+BA 1 mg/l ลำต้นมีขนาดกลาง และขนาดลำต้นจะเล็กที่สุดในอาหารสูตร MS+BA 2 และ 4 mg/l ต้นที่ได้จากการเลี้ยงส่วนลำต้นไต้ยอดนั้น พบว่า ในอาหารสูตร MS จะมีขนาดลำต้นค่อนข้างใหญ่เช่นเดียวกัน และลำต้นในอาหารสูตรอื่นๆ มีขนาดกลาง

#### ขนาดใบ

จากผลการวัดขนาดใบของเข็มม่วงที่เลี้ยงในอาหารทั้ง 6 สูตรโดยให้คะแนนตามขนาดของใบ (ตารางที่ 5) พบว่า ใบของส่วนยอดและส่วนลำต้นไต้ยอดที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS มีขนาดใหญ่ที่สุด และแตกต่างจากสูตรอื่นๆอย่างเห็นได้ชัด ในอาหารสูตร MS+BA 4 mg/l มีแนวโน้มที่จะให้ขนาดของใบที่เล็กมากทั้งจากการใช้ส่วนยอดและส่วนลำต้นไต้ยอด นอกจากนี้ ยังพบว่า ใบของส่วนยอดจะมีขนาดใหญ่กว่าใบของส่วนลำต้นไต้ยอดเมื่อเปรียบเทียบกับในอาหารทุกสูตร

#### สีใบ

จากการให้คะแนนตามระดับสีของใบ พบว่า ใบของเข็มม่วงในอาหารทุกสูตรมีสีเขียวค่อนข้างเข้ม โดยเฉพาะในอาหารสูตร MS+BA 0.5 mg/l ที่มีสีเขียวเข้มมากที่สุด

#### การเกิดราก

อาหารสูตร MS ให้ผลดีที่สุดในการชักนำให้เกิดรากทั้งในส่วนยอดและลำต้นไต้ยอด ซึ่งจากการเปรียบเทียบ พบว่า ลำต้นไต้ยอดมีการตอบสนองต่ออาหารสูตร MS ในการเกิดรากได้ดีกว่าส่วนยอด นอกจากนี้สูตรอาหารที่มี BA เพียงอย่างเดียวในระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 1 - 4 mg/l มีปริมาณการเกิดรากน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ตอน 2 การย้ายปลุก

จากการนำต้นเข็มม่วงที่ประกอบด้วยราก อายุประมาณ 50 วันหลังการ sub-culture พบว่า หลังจากย้ายออกปลุก ให้ความชื้นตลอดเวลาและควบคุมความชื้นด้วยการคลุมพลาสติกเป็นเวลา 1 สัปดาห์แล้วนั้น เข็มม่วงจะมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 100 % ( รูปที่ 9 ) และต้นที่ได้มีลักษณะสมบูรณ์ ( รูปที่ 10 )

### การเพาะเลี้ยงเมล็ดอ่อนแก้วเจ้าจอมภายใต้สภาพปลอดเชื้อ

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงเมล็ดอ่อนแก้วเจ้าจอมภายใต้สภาพปลอดเชื้อโดยการแบ่งเมล็ดออกเป็น 2 ส่วนตามขวางไปเลี้ยงบนอาหาร 4 สูตร ดังนี้คือ 1/2 MS, MS, MS + IAA 1 mg/l และ MS + K 2 mg/l + IAA 0.5 mg/l สูตรละ 10 ข้ำ พบว่า มีเพียงส่วนเดียวเท่านั้นที่สามารถเจริญเป็นต้นและรากได้ ( ตารางที่ 8,9 และรูปที่ 5,6 ) เมื่อการเพาะเลี้ยงผ่านไป 3 วัน จะมีจุดกำเนิดรากตรงส่วนโคนของเมล็ด สังเกตเห็นได้ชัด ภายหลังจากการเพาะเลี้ยง 9 วัน เมล็ดที่เจริญบนอาหารสูตร MS มีการเจริญเติบโตทั้งทางรากและลำต้นได้ดีที่สุด แตกต่างจากอาหารสูตรอื่นอย่างเห็นได้ชัด รองลงมาคือ การเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร 1/2 MS ส่วนการตอบสนองต่ออาหารสูตร MS + IAA 1 mg/l และ MS + K 2 mg/l + IAA 0.5 mg/l จะมีการเจริญเติบโตทางลำต้นใกล้เคียงกัน แต่อาหารสูตร MS + K 2 mg/l + IAA 0.5 mg/l จะให้ผลในการเจริญเติบโตทางรากดีกว่า หลังจากวันที่ 16 ของการเพาะเลี้ยง ปรากฏว่าต้นที่เจริญในอาหารสูตร 1/2 MS เริ่มมีอัตราการเจริญทางลำต้นและรากลดลง แต่หลังจากวันที่ 30 การเจริญทางรากมีแนวโน้มสูงขึ้น

การเจริญเติบโตของเมล็ดแก้วเจ้าจอม ส่วนใหญ่มีการเจริญเติบโตสูงขึ้น 2 ช่วง คือช่วงวันที่ 12 - 16 และช่วงวันที่ 26 -30 ในการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 33 วัน ในช่วงแรก อัตราการเจริญเติบโตทางรากและลำต้นสูงกว่าช่วงหลัง ยกเว้นสูตร MS + IAA 1 mg/l และ MS + K 2 mg/l + IAA 0.5 mg/l ที่อัตราการเจริญเติบโตทางลำต้นในช่วงหลังจะสูงกว่าช่วงแรก

## การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Heliconia

การนำหน่อของพรรณรักษามาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรีนที่ระดับความเข้มข้น 2 % , 5 % และ 10 % เป็นเวลา 60, 30 และ 20 นาที ตามลำดับ ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS+BA 5 mg/l และ MS+BA 10 mg/l พบว่า ที่ระดับการใช้สารละลายคลอรีนเข้มข้น 2 % เป็นเวลา 60 นาที ดังกล่าว มีแนวโน้มที่จะได้หน่อที่ปราศจากโรคมากที่สุด การเลี้ยงบนอาหารสูตร MS+BA 5 mg/l ยังมีแนวโน้มที่จะให้หน่อที่มีการเจริญเติบโตที่ดีกว่าอาหารสูตร MS+BA 10 mg/l (ตารางที่ 10) นอกจากนี้ยังพบสารสีน้ำตาลบริเวณโคน(ฐาน)ของหน่อทุกหน่อ

จากผลการทดลองทั้ง 2 ครั้ง จึงทำการทดสอบสภาพของอาหารโดยใช้อาหารเหลวและอาหารแข็งสูตร MS+5BA และฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวหน่อด้วยสารละลายคลอรีนที่ 2 % พบว่า การเจริญเติบโตของหน่อในสภาพอาหารเหลว( วางบนเครื่องเขย่า ) มีอัตราการเจริญเติบโตสูงและรวดเร็วกว่า( ตารางที่ 12 ) นอกจากนั้นอาหารเหลวยังคงมีสีน้ำตาลอ่อน จึงทดลองย้ายหน่อที่เจริญบนอาหารแข็งบางส่วนไปเลี้ยงบนอาหารเหลวก็พบว่าการเจริญเติบโตสูงขึ้นมาก

หลังจากนั้นได้ทดลองนำหน่อที่ปลอดเชื้อและรอดชีวิตที่เจริญในอาหารแข็งที่เหลือไปเลี้ยงในสภาพ Paper Bridge บนกระดาษที่วางลงในอาหารเหลวสูตร MS + 5BA ( รูปที่ 11 ) ในสภาพปลอดเชื้อ(ไม่ต้องวางบนเครื่องเขย่า ) ปรากฏว่า หน่อไม่มีการเจริญเติบโตเลยและตายในที่สุด

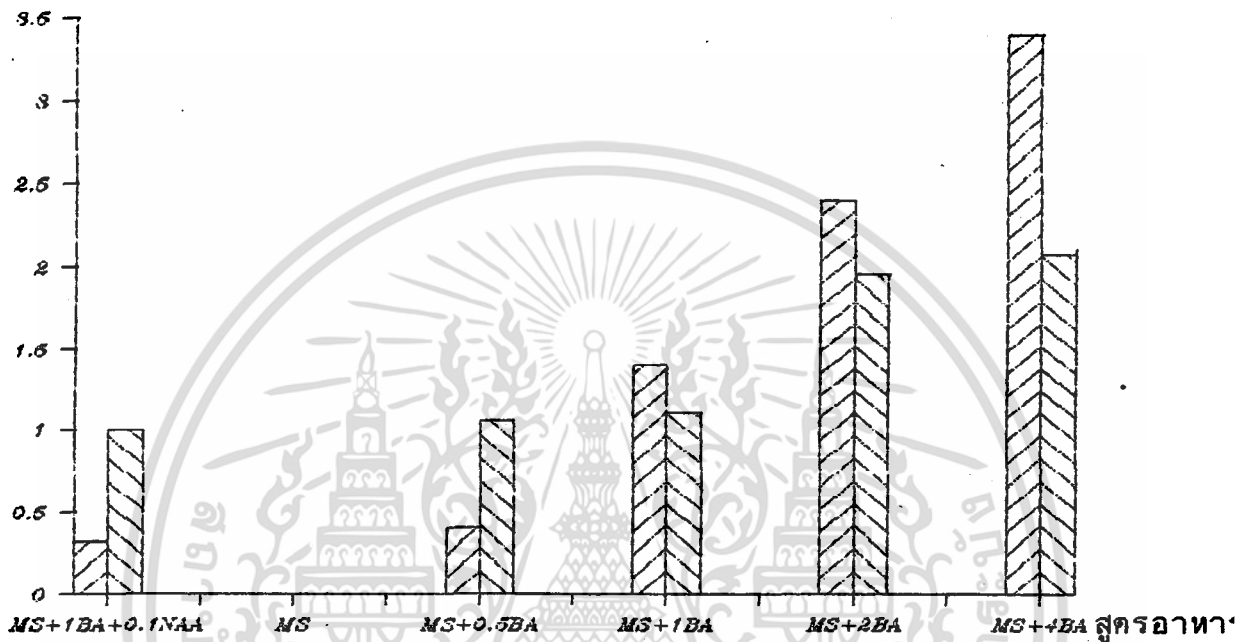
ย้ายหน่อที่มีขนาดประมาณ 1-1.5 นิ้วในอาหารเหลวไปเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรเดียวกัน( MS+5BA ) อีกครั้งหนึ่ง พบว่า หน่อมีการเจริญเติบโตดีเช่นกัน

ตารางที่ 1 แสดงผลการเปรียบเทียบการเพิ่มจำนวนยอกที่เกิดหม่บนอาหาร  
สูตรต่าง ๆ จากส่วนยอกและส่วนลาคันไตยอกในการเพาะเลี้ยง เชื้อหม่ม่วง  
ในสภาพปลอดเชื้อหลังการ subculture 30 วัน

สูตรอาหาร	จำนวนยอกต่อตัน (ยอก)	
	ส่วนยอก	ส่วนลาคันไตยอก
MS+1BA+0.1NAA	0.32	1.00
MS	0.00	0.00
MS+0.5BA	0.40	1.05
MS+1BA	1.40	1.10
MS+2BA	2.40	1.95
MS+4BA	3.40	2.08

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนยอดคอตัน (ยอด)



รูปที่ 1 แสดงผลการเปรียบเทียบการเพิ่มจำนวนยอด บนอาหารสูตรต่างๆจากส่วนยอด และส่วนลำต้นได้ยอด ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ หลังการ subculture 30 วัน



ส่วนยอด



ส่วนลำต้นได้ยอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้าม **ทำซ้ำ** หรือ **เผยแพร่** ของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

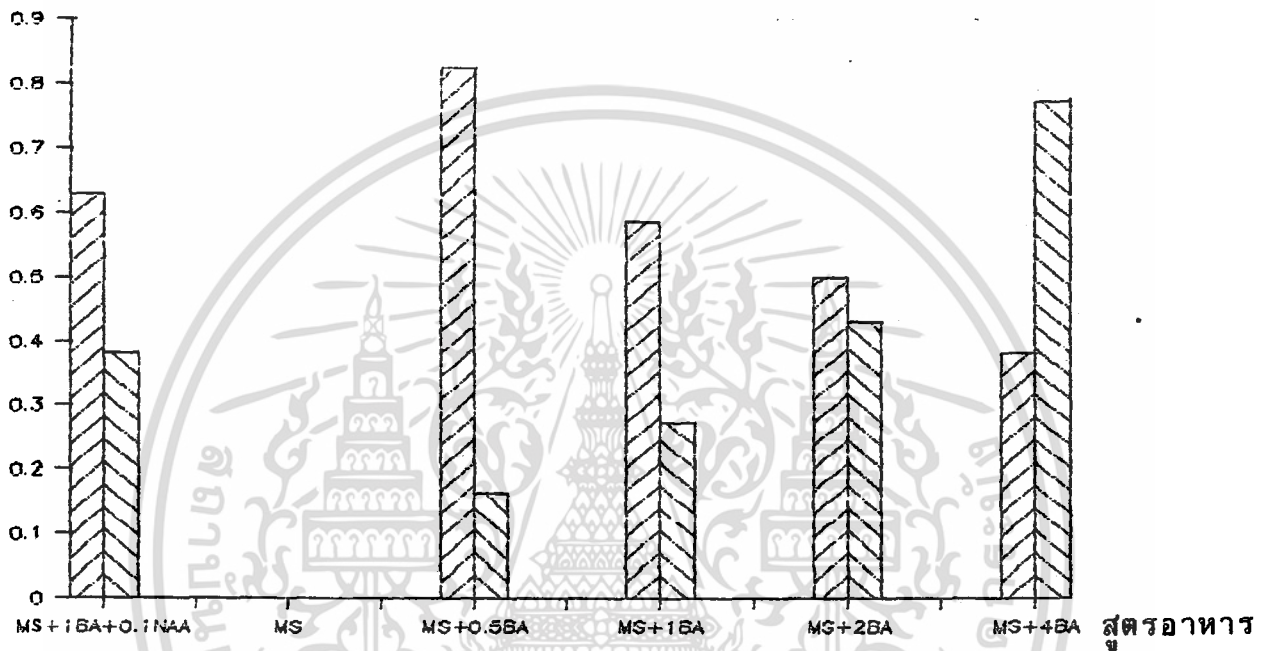
**ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร**  
**สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง**

ตารางที่ 2 แสดงผลการเปรียบเทียบความสูงของยอดใหม่จากการเพาะเลี้ยง  
 เชื้อม่วงบนอาหารสูตรต่างๆจากส่วนยอดและส่วนลำต้นใต้ยอด  
 ในสภาพปลอดเชื้อ หลังการ subculture 30 วัน

สูตรอาหาร	ความสูงของยอดใหม่ (เซนติเมตร)	
	ส่วนยอด	ส่วนลำต้นใต้ยอด
MS+1BA+0.1NAA	0.63	0.38
MS	0.00	0.00
MS+0.5BA	0.83	0.16
MS+1BA	0.59	0.28
MS+2BA	0.50	0.43
MS+4BA	0.38	0.77

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสูงของยอดใหม่ (เซนติเมตร)



รูปที่ 2 แสดงผลการเปรียบเทียบความสูงของยอดใหม่ บนอาหารสูตรต่างๆจากส่วนยอด และส่วนลำต้นใต้ยอด ในการเพาะเลี้ยงเข็มม่วงในสภาพปลอดเชื้อ หลังการ subculture 30 วัน



ส่วนยอด



ส่วนลำต้นใต้ยอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงผลการเปรียบเทียบความสูงของต้นบนอาหารสูตรต่างๆ จากส่วนยอดและส่วนลำต้นใต้ยอดในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ หลังการ subculture 30 วัน

สูตรอาหาร	ความสูงของต้นเนื้อเยื่อ ( เซนติเมตร )	
	ส่วนยอด	ส่วนลำต้นใต้ยอด
MS+1BA+0.1NAA	2.25	1.55
MS	2.55	1.87
MS+0.5BA	2.20	1.57
MS+1BA	2.30	1.43
MS+2BA	2.63	1.90
MS+4BA	2.10	1.75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 แสดงผลการเปรียบเทียบขนาดลำต้นบนอาหารสูตรต่างๆ จากส่วนยอดและส่วนลำต้นใต้ยอด ในการเพาะเลี้ยงเข็มม่วง ในสภาพปลอดเชื้อ หลังการ subculture 50 วัน

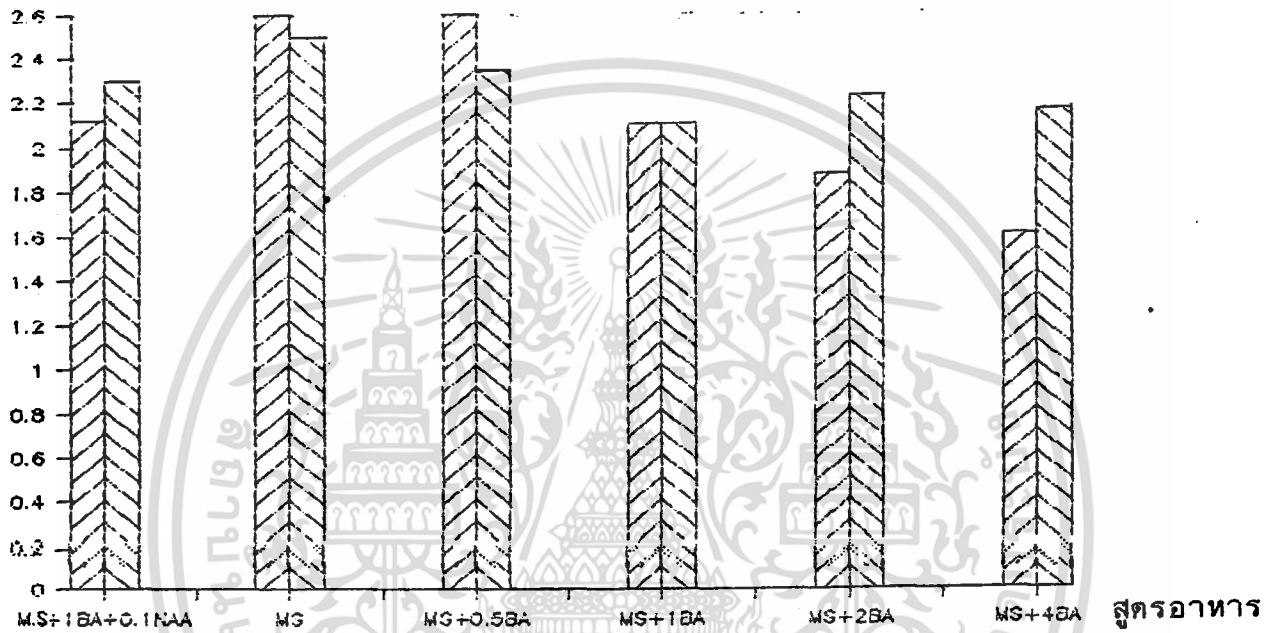
สูตรอาหาร	ขนาดลำต้น (คะแนน)	
	ส่วนยอด	ส่วนลำต้นใต้ยอด
MS+1BA+0.1NAA	2.12	2.30
MS	2.60	2.50
MS+0.5BA	2.60	2.35
MS+1BA	2.10	2.10
MS+2BA	1.87	2.22
MS+4BA	1.60	2.15

โดยแสดง เป็นระดับคะแนนดังนี้คือ

- คะแนน 1 = ลำต้นขนาดเล็ก
- คะแนน 2 = ลำต้นขนาดกลาง
- คะแนน 3 = ลำต้นขนาดใหญ่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ขนาดลำต้น (คะแนน)



รูปที่ 3 แสดงผลการเปรียบเทียบขนาดลำต้น บนอาหารสูตรต่างๆจากส่วนยอด และส่วนลำต้นใต้ยอด ในการเพาะเลี้ยงเข็มม่วงในสภาพปลอดเชื้อ หลังการ subculture 50 วัน



ส่วนยอด



ส่วนลำต้นใต้ยอด

โดยการใช้คะแนน 1 = ลำต้นขนาดเล็ก

คะแนน 2 = ลำต้นขนาดกลาง

คะแนน 3 = ลำต้นขนาดใหญ่

ตารางที่ 5 แสดงผลการเปรียบเทียบขนาดใบบนอาหารสูตรต่างจากส่วนยอด และส่วนลำต้นใต้ยอดในการเพาะเลี้ยงเสริมม่วงในสภาพปลอดเชื้อ หลังการ subculture 30 วัน

สูตรอาหาร	ขนาดใบ (คะแนน)	
	ส่วนยอด	ส่วนลำต้นใต้ยอด
MS+1BA+0.1NAA	1.77	1.30
MS	2.60	2.08
MS+0.5BA	2.30	1.45
MS+1BA	1.80	1.10
MS+2BA	2.13	1.33
MS+4BA	1.30	1.16

โฆษณแสดง เป็นระดับคะแนนดังนี้คือ

- คะแนน 1 = ใบขนาดเล็ก
- คะแนน 2 = ใบขนาดกลาง
- คะแนน 3 = ใบขนาดใหญ่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 แสดงผลการเปรียบเทียบสีใบบนอาหารสูตรต่าง ๆ  
จากส่วนยอดและส่วนลำต้นใต้ยอดในการเพาะเลี้ยงเข็มม่วง  
ในสภาพปลอดเชื้อ หลังการ subculture 30 วัน

สูตรอาหาร	สีใบ (คะแนน)	
	ส่วนยอด	ส่วนลำต้นใต้ยอด
MS+1BA+0.1NAA	2.65	2.50
MS	2.50	2.43
MS+0.5BA	2.70	2.60
MS+1BA	2.60	2.40
MS+2BA	2.23	2.20
MS+4BA	2.40	2.13

โดยแสดง เป็นระดับคะแนนดังนี้คือ

คะแนน 1 = ใบสีเขียวอ่อน

คะแนน 2 = ใบสีเขียว

คะแนน 3 = ใบสีเขียวเข้ม

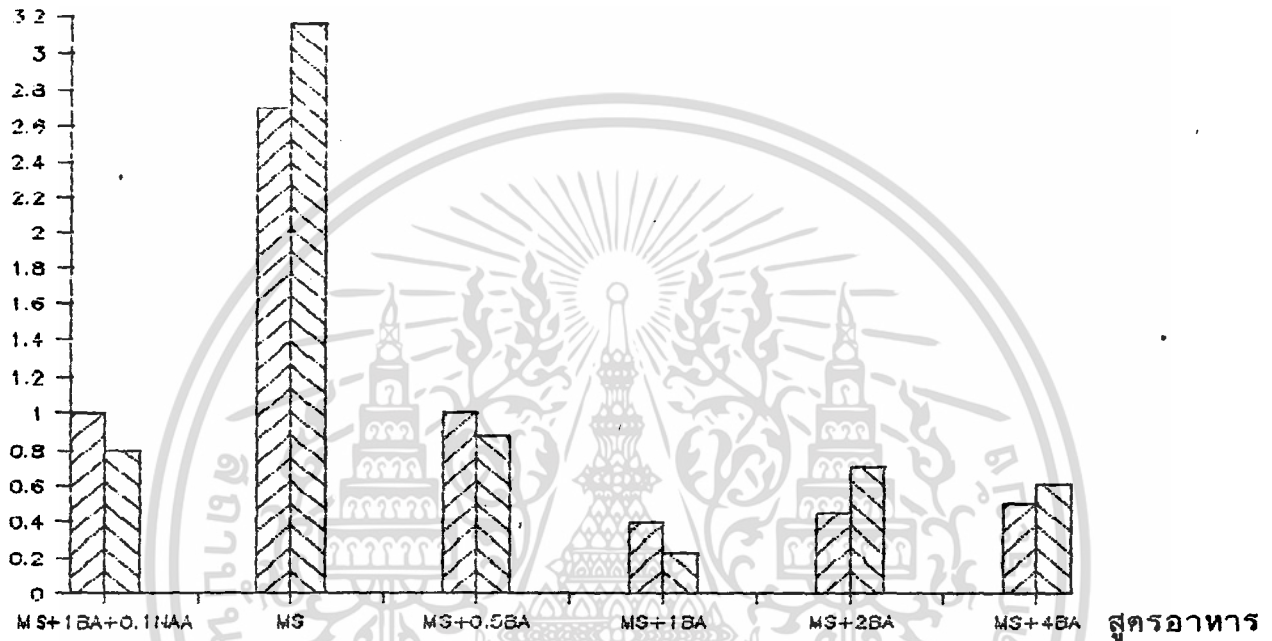
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 แสดงผลการเปรียบเทียบปริมาณรากบนอาหารสูตรต่างๆจากส่วนยอด และส่วนลำต้นที่แยกในของ เพาะเลี้ยง เชื้อม่วงในสภาพปลอดเชื้อ หลังการ subculture 30 วัน

สูตรอาหาร	ปริมาณราก (ราก)	
	ส่วนยอด	ส่วนลำต้นที่แยก
MS+1BA+0.1NAA	1.00	0.80
MS	2.70	3.15
MS+0.5BA	1.00	0.87
MS+1BA	0.40	0.23
MS+2BA	0.45	0.70
MS+4BA	0.50	0.60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ปริมาณราก



รูปที่ 4 แสดงผลการเปรียบเทียบปริมาณราก บนอาหารสูตรต่างๆจากส่วนยอด และส่วนลำต้นใต้ยอด ในการเพาะเลี้ยงเข็มม่วงในสภาพปลอดเชื้อ หลังการ subculture 30 วัน



ส่วนยอด



ส่วนลำต้นใต้ยอด

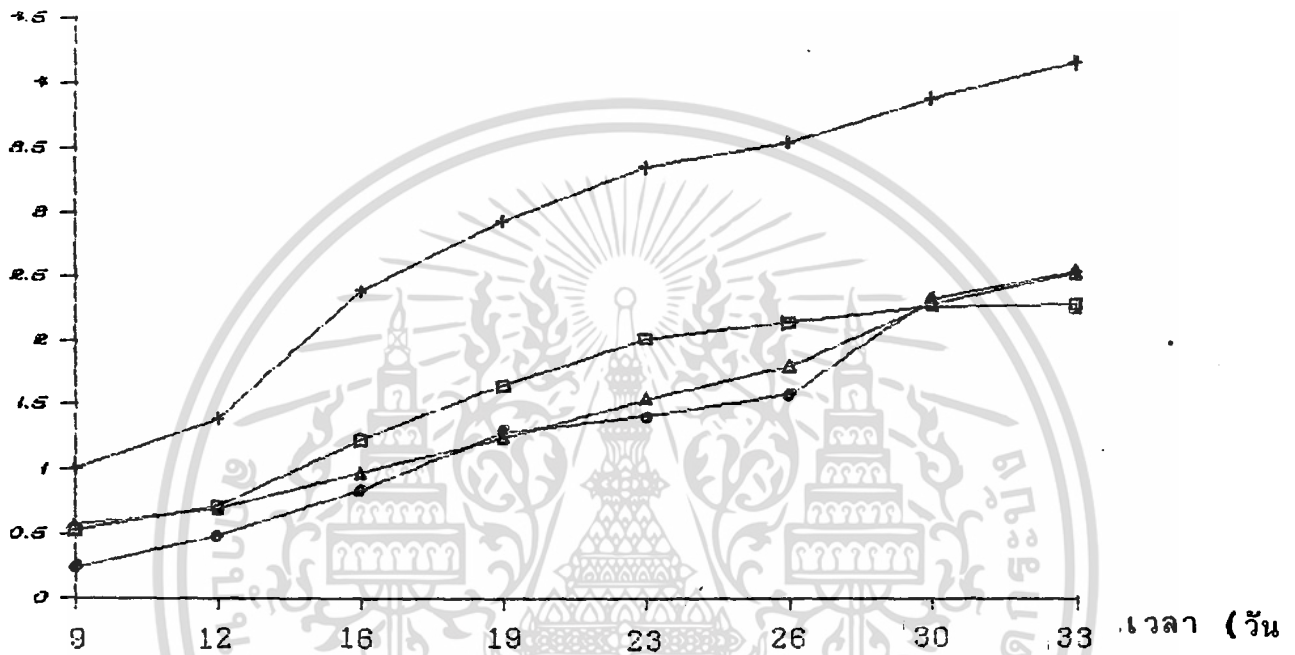
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 ผลการเจริญเติบโตทางลำต้นของการเพาะเลี้ยง เมล็ดอ่อนแก้ว เจ้าจอม  
บนสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารสูตรต่างๆ

สูตรอาหาร	ความสูงลำต้น (เซนติเมตร)							
	9	12	16	19	23	26	30	33 (วัน)
1/2 MS	0.53	0.72	1.23	1.65	2.01	2.14	2.26	2.28
MS	1.02	1.39	2.38	2.94	3.35	3.54	3.88	4.16
MS+1IAA	0.24	0.49	0.85	1.29	1.41	1.58	2.32	2.54
MS+2K+0.5IAA	0.58	0.70	0.98	1.25	1.54	1.80	2.28	2.53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสูงลำต้น ( เซนติเมตร )



รูปที่ 5 แสดงผลการเจริญเติบโตทางลำต้น ของการเพาะเลี้ยงเมล็ดอ่อนแก้วเจ้าจอมในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารสูตรต่างๆ

- 1/2 MS
- + MS
- MS + IAA 1 mg/l
- △ MS + Kinetin 2 mg/l + IAA 0.5 mg/l

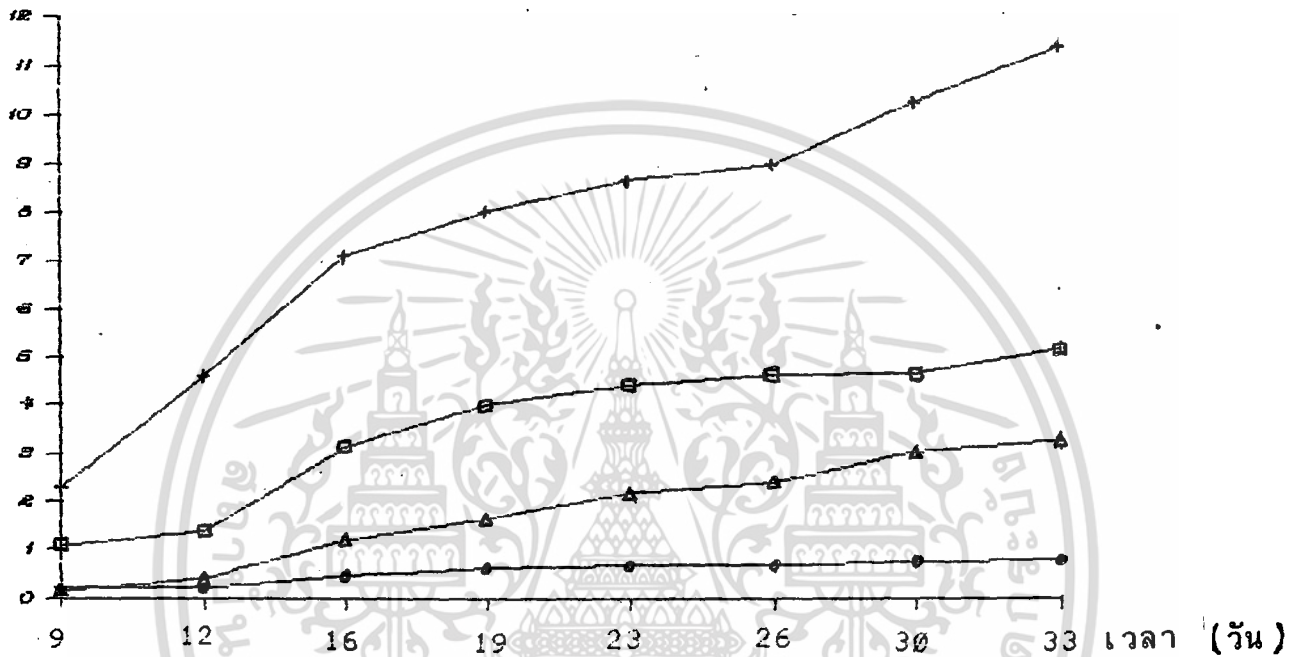
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 ผลการเจริญเติบโตทางรากของการเพาะเลี้ยง เมล็ดอ่อนแก้วเจ้าจอม  
ในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารสูตรต่างๆ

สูตรอาหาร	ความยาวราก (เซนติเมตร)							
	9	12	16	19	23	26	30	33 (วัน)
1/2 MS	1.07	1.37	3.11	3.98	4.39	4.58	4.59	5.11
MS	2.28	4.57	7.08	8.00	8.65	8.95	10.22	11.33
MS+1IAA	0.23	0.23	0.47	0.63	0.67	0.68	0.76	0.80
MS+2K+0.5IAA	0.17	0.43	1.18	1.61	2.18	2.38	2.98	3.20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความยาว ( เซนติเมตร )



รูปที่ 6 แสดงผลการเจริญเติบโตทางราก ของการเพาะเลี้ยงเมล็ดอ่อนแก้วเจ้าจอมในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารสูตรต่างๆ

- 1/2 MS
- + MS
- MS + IAA 1 mg/l
- △ MS + Kinetin 2 mg/l + IAA 0.5 mg/l

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 แสดงผลการพอกฆ่าเชื้อ Heliconia psittacorum ที่ระดับความเข้มข้นสารละลาย Chlorox 2%, 5% และ 10% นาน 60, 30 และ 20 นาที ตามลำดับ

ความเข้มข้น Chlorox	2% (60นาที)		5% (30นาที)		10% (20นาที)	
สูตรอาหาร	5BA	10BA	5BA	10BA	5BA	10BA
จำนวนหน่อทั้งหมด	8	5	3	3	3	3
จำนวนหน่อ contaminate	5	4	3	3	3	3
จำนวนหน่อไม่ contaminate	3**	1*	0	0	0	0

\* มีการเจริญเติบโตช้ามาก

\*\* มีการเจริญเติบโตช้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 แสดงผลการพอกฆ่าเชื้อ Heliconia psittacorum ที่ระดับความเข้มข้น สารละลาย Chlorox 2% และ 5% นาน 60 และ 30 นาที ตามลำดับ

ความเข้มข้น Chlorox	2%(60นาที)			5%(30นาที)		
	5BA	10BA	5BA	10BA	5BA	10BA
สูตรอาหาร	แข็ง	เหลว	แข็ง	แข็ง	เหลว	แข็ง
ชนิดอาหาร	แข็ง	เหลว	แข็ง	แข็ง	เหลว	แข็ง
จำนวนหน่อทั้งหมด	4	3	4	3	4	4
จำนวนหน่อ contaminate	2	2	3	3	2	3
จำนวนหน่อไม่ contaminate	2**	1***	1*	0	1***	0

- \* มีการเจริญเติบโตช้ามาก
- \*\* มีการเจริญเติบโตช้า
- \*\*\* มีการเจริญเติบโตเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่12 แสดงผลการพอกฆ่าเชื้อ Heliconia psittacorum ที่ระดับความเข้มข้น  
สารละลาย Chlorox 2% นาน 60 นาที

ชนิดอาหารสูตร MS+5BA	แข็ง	เหลว
จำนวนหน่อทั้งหมด	13	9
จำนวนหน่อ contaminate	5	6
จำนวนหน่อไม่มี contaminate	8*	3***

- \* มีการเจริญเติบโตช้ามาก
- \*\* มีการเจริญเติบโตช้า
- \*\*\* มีการเจริญเติบโตเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



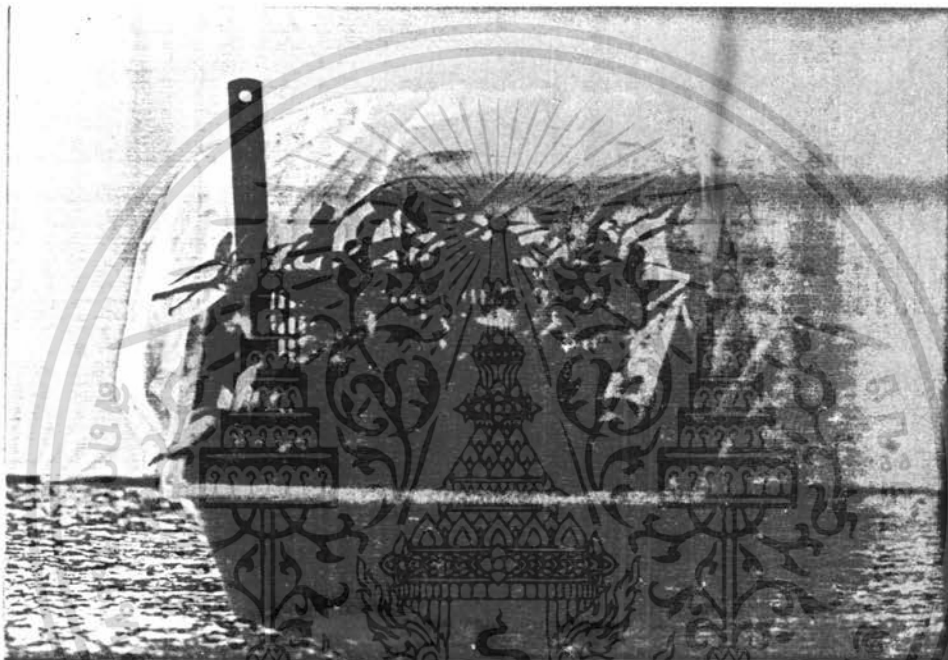
รูปที่ 7 แสดงการเพิ่มจำนวนต้นจากการเลี้ยงชิ้นส่วนของเข็มม่วงในอาหาร 2 สูตรที่มีการเพิ่มจำนวนยอดมากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



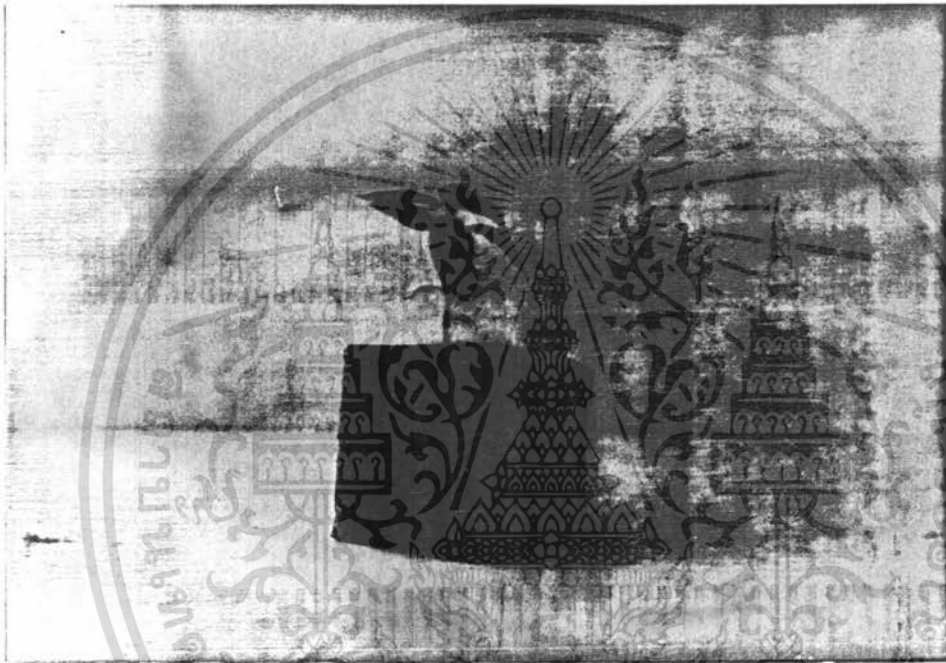
รูปที่ 8 แสดงขนาดลำต้น จากการเลี้ยงส่วนยอดในอาหาร 2 สูตร ที่มีขนาดใหญ่ที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 9 แสดงต้นเข็มม่วงที่รอดชีวิต 100 % หลังจากย้ายปลูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 10 ต้นเข็มม่วงที่มีลักษณะสมบูรณ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 11 ผลการเลียงส่วนของหน่อธรรมรักษาในสภาพ paper bridge

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## วิจารณ์

### การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ จำนวนยอดที่เกิดขึ้นใหม่จะมีจำนวนมากที่สุดเมื่อนำส่วนยอดมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS + BA 4 mg/l และมีปริมาณมากกว่าการใช้ส่วนลำต้นได้ยอด ทั้งๆที่ส่วนยอดน่าจะมีปรากฏการณ์ apical dominance เกิดขึ้นซึ่งทำให้ตาข้างไม่สามารถเจริญเป็นตาข้างได้ จากการทดลองนี้ อาจเป็นเพราะว่าฮอร์โมนภายนอก ( exogenous hormone ) มีความเข้มข้นมากกว่าฮอร์โมนภายใน ( endogenous hormone ) ทำให้การเกิด ( apical dominance ) ไม่สามารถแสดงออกมาได้ในสูตรอาหารที่มี BA มากๆ เช่น MS+BA 4 และ 2 mg/l จะมีการแตกยอดมากแต่ลำต้นเตี้ย ขนาดใบและลำต้นเล็ก เนื่องจากการใช้ความเข้มข้นของ BA ในปริมาณสูงอาจมีผลต่อ auxin-cytokinin ratio ต่ำกว่าจุดสมดุล ทำให้พืชนำอาหารไปเสริมสร้างยอดใหม่มากกว่าการพัฒนาต้นเดิมให้มีลักษณะใหญ่สมบูรณ์ดังเช่นในอาหารสูตร MS, MS + BA 0.5 mg/l และ MS + BA 1 mg/l + NAA 0.1 mg/l ที่ไม่มีการแตกยอดหรือมีน้อย

ต้นที่ได้จากการใช้ส่วนยอดมาเพาะเลี้ยงในอาหารทุกสูตรจะสูงกว่าต้นที่ได้จากส่วนลำต้น เนื่องจากว่าส่วนยอดของพืชมีส่วนที่เรียกว่า shoot meristem ซึ่งเป็นแหล่งสำคัญที่มีการสร้างออกซินของพืช ( สัมพันธ์, 2527 ) ส่วนยอดของพืชจึงมีการตอบสนอง ( activity ) ในการเจริญเติบโตได้ดีกว่า จึงทำให้ต้นที่ได้จากการเลี้ยงส่วนยอดมีขนาดลำต้น, ขนาดใบ และสีของใบดีกว่า

ส่วนลำต้นได้ยอดจะเกิดรากได้ดีกว่าส่วนยอด เนื่องจากก่อนการ subculture ออกซินที่สร้างที่ยอดจะเคลื่อนลงมาสู่ส่วนโคนต้น ทำให้บริเวณส่วนล่างของลำต้นมีการเกิดรากได้ดีกว่า

### การเพาะเลี้ยงเมล็ดอ่อนแก้วเจ้าจอมในสภาพปลอดเชื้อ

การเพาะเลี้ยงเมล็ดอ่อนแก้วเจ้าจอมในสภาพปลอดเชื้อด้วยอาหารสูตร MS จะได้ต้นแก้วเจ้าจอมที่มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด ทั้งนี้เนื่องจากฮอร์โมนภายนอกไม่ใช่ปัจจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

ภายนอกที่สำคัญที่ทำให้เมล็ดงอก มนตรี และคณะ ( 2516 ) กล่าวว่า ปริมาณอาหาร ในเมล็ดที่เก็บไว้ที่แหล่งสะสม มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าที่งอกออกมาใหม่ ๆ อาหารเหล่านี้จะเปลี่ยนเป็นพลังงานช่วยในการงอก ถ้าอาหารสะสมมีปริมาณมาก จะทำให้ต้นกล้ามีความแข็งแรงและมีแนวโน้มที่จะเจริญเติบโตเป็นพืชที่แข็งแรง นีร์เดซ ( 2529 ) รายงานว่า เมล็ดพืชมีฮอร์โมนภายในอยู่มาก ทำให้สามารถดึงอาหารไปเลี้ยงได้ Beyley and Black ( 1978 ) กล่าวว่า มีการค้นพบออกซิน จิบเบอเรลลิน และไซโตไคนิน จำนวนมากในเมล็ดที่มีการพัฒนาดี โดยสามารถแยก IAA ได้จาก kernels ของข้าวโพด ( Zea mays ) จิบเบอเรลลินจากเมล็ดพืชตระกูล Phaseolus และไซโตไคนินบริสุทธิ์ จากข้าวโพดเช่นกัน อาหารสูตร 1/2 MS ให้ผลในการเจริญเติบโตทั้งทางรากและ ลำต้นน้อยกว่าอาหารสูตร MS อาจเป็นเพราะปริมาณแร่ธาตุอาหารต่างๆในอาหารสูตร 1/2 MS มีจำกัดกว่าในอาหารสูตร MS ซึ่งมีปริมาณแร่ธาตุอาหารที่พืชต้องการอย่างเต็มที่ ( ตารางภาคผนวก )

ออกซินเป็นฮอร์โมนพืชที่ช่วยส่งเสริมให้รากมีการพัฒนาดี แต่ปรากฏว่า ในอาหาร สูตร MS + IAA 1 mg/l มีอัตราการเจริญของรากน้อยกว่าในอาหารที่ไม่มีออกซิน หรือ มีน้อย แม้ว่าในระยะแรกของการเพาะเมล็ดจะพบว่า รากในอาหารสูตร MS + IAA 1 mg/l พัฒนาได้เร็วกว่าในสูตร MS+K 2 mg/l + IAA 0.5 mg/l เพราะที่ระดับ IAA 1 mg/l เป็นปริมาณที่มากเกินไปสำหรับการเจริญเติบโตของรากของแก้วเจ้าจอม ซึ่งสอดคล้องกับ นีร์เดซ ( 2529 ) ที่กล่าวไว้ว่า รากต้องการออกซินต่ำมากเพื่อการเจริญเติบโต ในกรณีที่มีออกซินมากเกินไป จะทำให้รากหยุดชะงักการเติบโต แต่การเกิด จุดกำเนิดรากนั้น พืชต้องการออกซินความเข้มข้นสูงมากกระตุ้น ซึ่งนำมาใช้ประโยชน์ในการกระตุ้นให้เกิดจุดกำเนิดรากในการเร่งการออกราก

### การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Heliconia

การฟอกฆ่าเชื้อหน่อธรรมชาติ ( Heliconia psittacorum ) ในการศึกษา ครั้งนี้จะได้นอที่ปราศจากเชื้อในเปอร์เซ็นต์ต่ำ เนื่องจากดินเป็นแหล่งที่มีจุลินทรีย์อาศัย อยู่มาก ทำให้ผิวนอกของหน่อมีโอกาสปนเปื้อนเชื้อที่ติดมากับดินสูงมาก การทำความสะอาด และลอกกาบหุ้มหน่อออกจึงเป็นการช่วยกำจัดเชื้อที่หลงเหลืออยู่ ซึ่งต้องอาศัยความประณีต และระมัดระวังมากขึ้น จากการศึกษาทดลอง พบว่า การตัดลอกกาบออกมากเกินไปจะทำให้หน่อ

เสียหายและตายได้เมื่อนำไปเลี้ยงบนอาหาร หรือมีโอกาสติดเชื้อได้มากทางบาดแผล ทั้งที่จริงแล้ว เนื้อเยื่อส่วนในของหน่อจะปลอดภัยจากการปนเปื้อนของเชื้อโรคมกกว่าส่วนนอก แต่กระนั้น ส่วนของหน่อขนาดใหญ่จะมีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อสูง จึงควรตัดลอกหน่อให้เหลือส่วนของหน่อเพียง 0.3 - 0.5 เซนติเมตร และควรตัดเนื้อเยื่อส่วนที่สัมผัสกับคลอโรกซ์ออกให้หมด

การพอกฆ่าเชื้อที่ผิวของหน่อธรรมชาติด้วยสารละลายคลอโรกซ์ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า มีเปอร์เซ็นต์ของหน่อที่ปราศจากเชื้อโรคที่ระดับความเข้มข้น 2 % เป็นเวลา 60 นาที มากกว่าวิธีการอื่นๆ เพราะที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าว สารละลายคลอโรกซ์สามารถซึมผ่านเนื้อเยื่อได้ดีกว่าที่ระดับความเข้มข้นสูงกว่า และไม่ทำอันตรายต่อเนื้อเยื่อของหน่อแม้จะใช้เวลาาน จึงมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อได้ดีกว่า

จากผลการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อธรรมชาติบนอาหารสูตร MS + BA 5 mg/l จะได้หน่อที่มีการเจริญเติบโตดี และรอบๆหน่อมีสีน้ำตาลน้อยกว่าหน่อที่เจริญบนอาหารสูตร MS + BA 10 mg/l ธีรพงศ์ ( 2528 ) อธิบายว่า โคนดินอาจมีผลไปกระตุ้นให้พืชหลังสารสีน้ำตาล ซึ่ง Reuveni และ Liliken-Kipnis กล่าวไว้ในปี 1974 ว่า สารสีน้ำตาลนี้คือ quinones ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ polyphenolds quinones

หน่อที่เจริญในสภาพอาหารเหลวมีการเจริญเติบโตได้ดีและเร็วกว่าบนอาหารแข็ง เป็นเพราะว่า อาหารเหลวช่วยเจือจางสารสีน้ำตาลซึ่งเป็นอันตรายต่อพืชให้มีความเข้มข้นลดต่ำลง เมื่อย้ายหน่อจากอาหารแข็งไปเลี้ยงในอาหารเหลว ก็พบว่า หน่อมีการเจริญดีขึ้นด้วยเหตุผลดังกล่าว แต่เมื่อทดลองย้ายหน่อจากบนอาหารแข็งไปเลี้ยงในสภาพ paper bridge กลับพบว่าตายหมดทุกหน่อ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ

1. เกาอาหารน้อยเกินไป
2. คุณสมบัติของกระดาษดูดซึมอาหารได้น้อย ทำให้เนื้อเยื่อพืชได้รับอาหารน้อยและยังเป็นการกักสารสีน้ำตาลไว้แทนที่จะซึมลงข้างล่าง

ธีรพงศ์ ( 2528 ) รายงานว่า Wang และ Huang ได้กล่าวถึงคุณสมบัติของผงถ่านในการดูดซับเมตาโบไลต์ต่างๆที่เนื้อเยื่อพืชปลดปล่อยออกมาจะนั้นในการศึกษาค้างต่อไปจึงน่าจะนำผงถ่านเติมในอาหารด้วย

หน่อที่ได้หลังจากเสร็จสิ้นผลการทดลองปรากฏว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อราตกลงไปข้างขวดและเมื่อพบก็ปรากฏว่าเชื้อราลามไปถึงเนื้อเยื่อพืชแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สรุป

การเพาะเลี้ยงเห็ดนางฟ้าในสภาพปลอดเชื้อ

จากผลการเปรียบเทียบสูตรอาหารต่างๆ และชิ้นส่วนของพืชที่นำมาเลี้ยง สรุปได้ว่า

1. อาหารสูตร MS + BA 4 mg/l ให้ผลดีที่สุดในการเพิ่มจำนวนยอด แต่ลำต้นที่ได้จะเตี้ย ใบและลำต้นมีขนาดเล็กมาก รองลงมาคืออาหารสูตร MS+BA 2 mg/l ซึ่งให้ผลผลิตของยอดมาก แต่ลำต้นเดิมสูงที่สุด ขณะที่ในอาหารสูตร MS จะได้ต้นที่มีความสมบูรณ์มากที่สุด และไม่มีอาการแตกยอดเลย
2. อาหารสูตร MS ชักน้ำให้เกิดรากได้ดีที่สุด
3. สีใบเห็ดนางฟ้าที่เลี้ยงในอาหารทุกสูตรมีสีเขียว จนถึงสีเขียวค่อนข้างเข้ม
4. ต้นที่ได้จากการนำส่วนยอดมาเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ จะมีลักษณะดีกว่าต้นที่ได้จากส่วนลำต้นใต้ยอด ในเรื่อง ความสูงของต้น ผลผลิตยอดใหม่ ขนาดใบ และสีใบ แต่ส่วนลำต้นใต้ยอด จะเกิดรากได้ดีกว่า โดยเฉพาะในอาหารสูตร MS

การเพาะเลี้ยงเมล็ดอ่อนแก้วเจ้าจอมในสภาพปลอดเชื้อ

การเพาะเลี้ยงเมล็ดอ่อนแก้วเจ้าจอมในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำเมล็ดมาฟอกด้วยสารละลายคลอรีนเข้มข้น 2 % นาน 60 นาที มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS จะทำให้ได้เมล็ดที่มีการเจริญเติบโตเป็นต้นที่แข็งแรงได้รวดเร็ว ควรเปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อธรรมรักษา

การฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของหน่อธรรมรักษาด้วยสารละลายคลอรีนเข้มข้น 2 % นาน 60 นาที และนำหน่อขนาดที่เหมาะสมมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS + BA 5 mg/l ก่อนนำไปเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรเดียวกัน จะได้หน่อที่มีการเจริญเติบโตดีที่สุด

## เอกสารอ้างอิง

กองบรรณาธิการวารสารบ้านและสวน. 2525. สารานุกรมไม้ดอกไม้ประดับในประเทศไทย เล่ม 2.  
อมรินทร์การพิมพ์, บางกอกน้อย กรุงเทพฯ.

----- . 2525. สารานุกรมไม้ดอกไม้ประดับในประเทศไทย เล่ม 3.  
อมรินทร์การพิมพ์, บางกอกน้อย กรุงเทพฯ.

กิริพงษ์ ญาตีสราพันธุ์. 2528. การขยายพันธุ์ปาล์มมัน้ำันโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.  
วิทยานพนธ์ปริญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ทวีพงศ์ สุวรรณโร. 2529. การขยายพันธุ์อินทผลัมโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.  
วิทยานพนธ์ปริญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

บรรเทียง บรรพศิริ. 2527. การขยายพันธุ์ขี้เหล็กโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.  
วิทยานพนธ์ปริญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

พีรเดช ทองอำไพ. 2529. ยอร์โมนพืชและสารสังเคราะห์. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ไพบูลย์ กวินเลิศวัฒนา. 2524. หลักการและวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

มนตรี เพ็ชรทองคำ, สุกินยา พสุธารชาติ, หงพร โชติภกร, ไพบูลย์ ภูริเวทย์, อัมพวัน อีร์วัฒน์,  
สรวง บุญวนิชย์ และสุภาวดี วงศ์วิญญูตระกูล. 2526. การขยายพันธุ์แบบใช้เพศ.  
การเกษตรเบื้องต้น. มหาวิทยาลัยรามคำแหง, กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิทย์ เทียงบุญธรรม. 2530. พจนานุกรมไม้ดอกไม้ประดับในประเทศไทย เล่ม 1.  
สำนักพิมพ์โอเคียนสตรี, กรุงเทพฯ.

สัมพันธ์ คัมภีรานนท์. 2527. ฮอว์โมนพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์  
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อำนาจ ปันรัตน์. 2519. ดอกไม้ในเมืองไทย เล่มที่ 4. โรงพิมพ์วีรธรรม, กรุงเทพฯ.

Bewlay, J.D. and M. Black. 1978. Physiological and Biochemistry of Seeds in  
Relation to Germination. New York.

Graf, A.B. 1970. Exotica 3. Roehrs Company, East Rutherford USA.

\_\_\_\_\_. 1981. Tropica. Roehrs Company, East Rutherford USA.

Hughes, K.W. 1980. Ornamental species, pp.5-50. In B.V. Conger (ed).  
Cloning Agricultural Plants Via In Vitro Techniques. CRC Press,  
Florida.

Kao, P.S., W. Handro and H. Harada. 1973. Hormonal control and differentiation  
of shoot, root and embryos in leaf and stem culture of Petunia  
inflata and Petunia hybrida, Physiol. Plant. 28:458-485.

Matin, S.W. 1980. Environmental factors: b. temperature, aeration, and pH. pp.143  
148  
In E. John Staba (ed). Plant Tissue Culture as a Source of  
Biochemical. CRC Press, Florida.

Mok, D.W.S. 1979. Cytokinin in dependence of tissue culture of Phaseolus:

a genetic trait. In Vitro. 15: 190-201.  
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Murashige, T. 1962. Plant propagation through tissue culture. Ann. Rev. Plant Physiol. 13: 100-101
- , 1974. Plant propagation through tissue culture. Ann. Rev. Plant Physiol. 25: 135-166.
- and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15:473-497.
- Sribert M. and P.G. Kadkada. 1980. Environmental factors: a. light. pp 143-148  
In E. John Staba(ed). Plant Tissue Culture as a Source of Biochemical  
 CRC Press, Florida.
- Skoog, F. and C.O. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultivated in vitro. Sym. Soc. Exp. 11: 118-131.
- Szweykowska, A. 1974. The role of cytokinins in the control of cell growth and differentiation in culture. Tissue Culture and Plant Science. 41: 461-472.
- Tran Thanh Van, K.M. 1981. Control of morphogenesis in vitro culture. Ann. Rev. Plant Physiol. 32: 291-311.

ตารางภาคผนวก แสดงสารประกอบในอาหารสูตร Murashige และ Skoog ( 1962 )

ชื่อสารเคมี	สูตรเคมี	ปริมาณที่ใช้ในอาหาร
		1 ลิตร (mg)
อัมโมเนียมไนเตรท	$\text{KN}_4\text{NO}_3$	1,650
โพตัสเซียมไนเตรท	$\text{KNO}_3$	1,900
แคลเซียมคลอไรด์	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440
แมกนีเซียมซัลเฟท	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
โพตัสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟท	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	170
บอริกแอซิด	$\text{H}_3\text{BO}_3$	6.2
แมงกานีสซัลเฟท	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	6.9
ซิงค์ซัลเฟท	$\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	6.14
โพตัสเซียมไอโอดิด์	$\text{KI}$	0.83
โซเดียมโมลิบเดต	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25
คอปเปอร์ซัลเฟท	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
โคบอลต์คลอไรด์	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
โซเดียมเอทิลีนไดอามีนเตตราอะซีเตท	$\text{Na}_2\text{EDTA}$	37.25
เฟอร์รัสซัลเฟท	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.85
ไกลซีน	Glycine	2.0
นิโคตินิคแอซิด	Nicotinic acid	0.5
ไพริดอกซีนไฮโดรคลอไรด์แอซิด	Pyridoxine -HCL	0.5
ไทอามีนไฮโดรคลอไรด์แอซิด	Thiamine -HCL	0.1
ซูโครส	Sucrose	30,000 (30 g.)
วุ้น	Agar	6,200 (6.2 g.)
ความเป็นกรดต่าง	pH	5.6



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับ... ท่านนั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอก... อย่างไรก็ดี อาจอ้างถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้