บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ต้นเท้ายายม่อม หรือต้นหนวดแมว (ปราจีนบุรี) มีชื่อภาษาอังกฤษว่า Tacca (Everett,1968) Fiji arrowroot หรือ Tahiti arrowroot (ศูนย์สนเทศการเกษตรและสหกรณ์,2528) Polynesian arrowroot (Graf,1982) East Indian arrowroot หรือ South Sea arrowroot (Brickell,1990) เป็นพืชล้มลุกหลายฤดู จัดอยู่ในตระกูล Taccaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Tacca pinnatifida* Forst. หรือ *Tacca leontopetaloides* Kuntze (พจนานุกรมฉบับบัณฑิตยสถาน,2525; Seymour,1970; Graf,1982)

ต้นเท้ายายม่อมมีถิ่นกำเนิดแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ไปจนถึงฮาวาย อัฟริกา และออสเตรเลีย (Everett,1968; Graf,1982)

1. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ลำต้น มีลักษณะเป็นหัว สัณฐานกลมแบน อยู่ใต้ดิน (พจนานุกรมฉบับบัณฑิตยสถาน,2525)

ใบ ก้านใบอวบน้ำ ยาวได้ถึง 1 ม (เมตร) (Brickell,1990) แผ่นใบสีเขียวเข้ม กว้าง รูปไข่ มีรอยหยักแบ่งเป็น 3 ส่วนแยกจากกัน (Everett,1968; Graf,1982) (ภาพที่ 1)

ดอก ช่อดอกเป็นแบบ umbel เกิดที่ปลายยอดของก้านช่อดอก (ภาพที่ 2) ประกอบด้วย ดอกย่อย 4-12 ดอก รวมกันเป็นกลุ่ม ดอกมีลักษณะรูปกรวย สีเหลือง หรือสีเขียวอมม่วง แต่ละดอกมี 6 กลีบ มีกลีบประดับเป็นเส้นเล็กๆ คล้ายหนวดแมว ประมาณ 20-40 เส้นต่อช่อ ห้อยลงหาพื้นดิน แต่ละเส้นยาวประมาณ 20 ซม ก้านดอกอวบ สูง 45-60 ซม หรือยาวได้ถึง 1 ม (Seymour,1970; Graf,1982; Brickell,1990)

ผล ค่อนข้างกลม สีเหลือง (ศูนย์สนเทศการเกษตรและสหกรณ์,2528)

หัว เป็นแบบ tuberous rhizome เกิดหลายหัวรวมกลุ่มกัน หัวมีอายุหลายปี (clump-forming rhizomatous perrenial) มีแป้งมาก (Everett,1968; Seymour,1970)

ภาพที่ 1 ใบและช่อดอกของเท้ายายม่อม

ภาพที่ 2 ลักษณะช่อดอกของเท้ายายม่อม

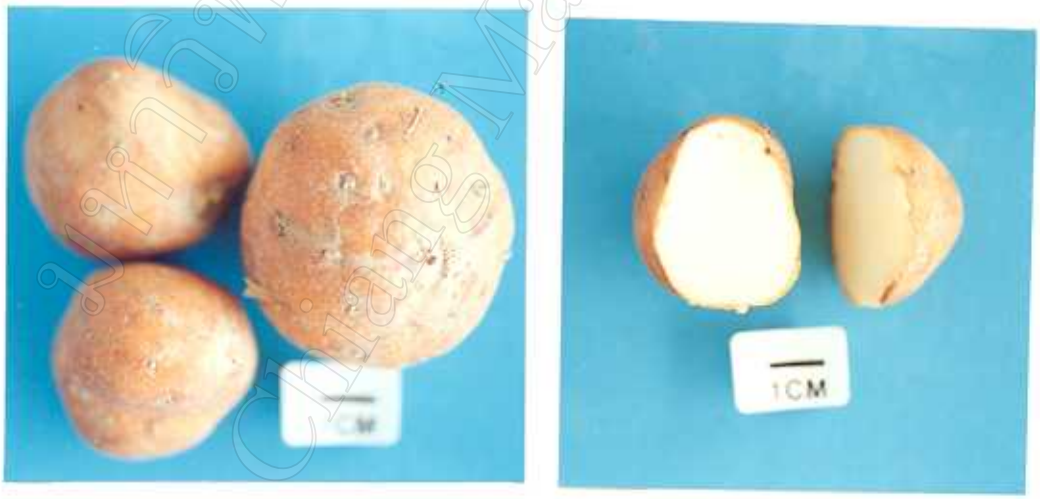
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

2. การใช้ประโยชน์จากต้นเท้ายายม่อม

ส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์คือ หัว (ภาพที่ 3) ใบ และเมล็ด

หัว นำมาสกัดทำแป้ง เรียกว่า แป้งเท้ายายม่อม เป็นสมุนไพร สำหรับคนไข้ที่เบื่ออาหาร อ่อนเพลีย รับประทานแล้วจะเกิดกำลัง (สุนทรี,2536) นอกจากนี้ หัวยังใช้เป็นยาพอกริดสีดวงทวาร และสาร รสขมชื่อ Taccalin ซึ่งสกัดได้จากหัว สามารถใช้เป็นยาแก้ท้องเสีย และโรคเกี่ยวกับลำไส้ (ศูนย์สนเทศการเกษตรและสหกรณ์,2528) แป้งเท้ายายม่อม มีลักษณะคล้ายกับแป้งข้าวโพด คือ ขาวเป็นผงละเอียด เหมาะในการช่วยให้อาหารข้น ใช้ทำ พุดดิ้ง เกรวี่ ซอส แป้งเพสทรี่ และคุกกี้ นิยมใช้ผสมกับแป้งชนิดอื่น เพื่อให้ได้ลักษณะขนม ตามที่ต้องการ เช่น การทำขนมชั้นจากแป้งข้าวจ้าว จะผสมแป้งเท้ายายม่อมด้วย เพื่อให้ขนมเป็นประกายและเหนียวขึ้น (ศิริลักษณ์,2525) หัวเท้ายายม่อมมีแป้งมาก สามารถนำมา ต้ม หรือ ปิ้งรับประทานได้ (Graf,1982; Brickell,1990)

ใบและเมล็ด มีรายงานว่ามีแอลคาลอยด์ (ศูนย์สนเทศการเกษตรและสหกรณ์,2528) ซึ่งข้อมูลนี้สามารถนำไปใช้ในทางเภสัชกรรมต่อไปได้



(ก) (ข)

ภาพที่ 3 หัวของเท้ายายม่อม

(ก) หัวสมบูรณ์

(ข) หัวผ่าซีก

3. สภาพการปลูกเลี้ยงโดยทั่วไป

ต้นเท้ายายม่อม ต้องการอากาศชื้น ร่ม และดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ พักตัวในฤดูหนาว ในระหว่างพักตัวต้องการความชื้นเพียงเล็กน้อย จึงไม่ต้องให้น้ำมาก พอถึงฤดูใบไม้ผลิ จึงควรเปลี่ยนเครื่องปลูกใหม่ ที่มีส่วนผสมของ พีทมอส ทราย และดินร่วน เครื่องปลูกต้องมีการระบายน้ำดี ในระหว่างนี้ต้นพืชต้องการน้ำมาก และควรให้ปุ๋ยน้ำแบบเจือจาง สำหรับอุณหภูมิที่เหมาะสมในฤดูหนาว ต่ำสุด คือ 55 องศาฟาแรนไฮท์ และในฤดูใบไม้ผลิถึงฤดูใบไม้ร่วงอุณหภูมิต่ำสุดควรเป็น 60-65 องศาฟาแรนไฮท์ (Everett,1968; Brickell,1990) ต้นเท้ายายม่อมออกดอกในฤดูร้อน (Seymour,1970)

4. การขยายพันธุ์

การขยายพันธุ์ต้นเท้ายายม่อม ควรทำในฤดูใบไม้ผลิ สามารถทำได้หลายวิธีดังนี้ (Brickell,1990)

1. โดยการเพาะเมล็ด
2. โดยการแบ่งหัว โดยการตัดแบ่งหัวออกเป็นส่วนๆ และ ชิ้นส่วนของพืชเหล่านี้ที่มีตาติดอยู่จะเจริญเป็นต้นพืชต้นใหม่ต่อไป

5. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ยังไม่เคยมีรายงาน เกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นเท้ายายม่อม แต่มีรายงานเกี่ยวกับพืชหัวชนิดอื่น ที่ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยใช้ชิ้นส่วนต่างๆของพืช เช่น ชิ้นส่วนของหัว ใบ ดอก รังไข่ และ ตา เป็นต้น โดยมีการใช้ส่วนประกอบของอาหาร และสารควบคุมการเจริญเติบโต ตลอดจนเทคนิคที่แตกต่างกันไป ตามชนิดของพืช ซึ่งพอจะจำแนกรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องได้ดังนี้

5.1 ส่วนต่างๆของพืชประเภทหัวที่นำมาเพาะเลี้ยง

ส่วนของพืชที่จะนำไปเพาะเลี้ยงนั้น ตามทฤษฎี สามารถใช้ชิ้นส่วนของพืชที่มีชีวิตและไม่พัฒนามากเกินไปเพาะเลี้ยงได้ทุกส่วน เช่น ยอด ราก ตา ใบ ดอก ผล เมล็ด อับละอองเกสรตัวผู้ ไข่ เนื้อเยื่อสะสมอาหาร หรือแม้แต่เซลล์ที่มีชีวิตของพืช ก็สามารถนำไปเพาะเลี้ยงให้พัฒนา

เป็นต้นได้ เพราะพืชมีคุณสมบัติ totipotency อย่างไรก็ตามความเป็นจริงนั้น การที่จะเลือกเนื้อเยื่อส่วนไหนมาเลี้ยงก็ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ ความยาก ง่ายในการพัฒนาของชิ้นส่วน (วิชัย,2532) ดังตัวอย่างงานวิจัยที่เกี่ยวข้องดังนี้

5.1.1 <u>การเพาะเลี้ยงส่วนยอด</u>

หรรษาและคณะ (2527) ทำการทดลองเลี้ยงหน่อของบุก (*Amorphophallus* spp.) บนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog) สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนเกิดแคลลัส แล้วพัฒนาไปเป็น ราก ยอด และต้นที่สมบูรณ์ได้ ตามลำดับ

ชลิต (2525) ทำการทดลองเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนยอด ของอะโลคาเซีย 2 พันธุ์ คือ *Alocasia amazonica* และ *A. chelsonii* โดยเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง โดยใช้วิตามินของอาหารสูตร Nitsch and Nitsch สามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนได้ โดยใช้ระยะเวลา 30-40 วัน

กุลวดี (2529) เลี้ยงส่วนปลายยอดและข้อ ของกล็อกซีเนีย สามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นได้ บนอาหารสูตร MS ที่มี kinetin 2 มก/ล (มิลลิกรัมต่อลิตร)

Mosella and Fernandes (1986) เลี้ยงปลายยอดของ *Allium sativum* บนอาหารที่มี BA(benzyladenine) 0.05 มก/ล และ phloroglucinol 126 มก/ล แล้วย้ายไปเลี้ยงบนอาหารที่ทำให้เกิดรากโดยมี NAA (α-naphthalene acetic acid) 1.0 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงที่สุดถึง 92 เปอร์เซ็นต์ และหลังจากเกิดรากแล้ว สามารถเกิดหัวเล็กได้ถึง 80 เปอร์เซ็นต์

Bach (1992) ได้นำเอาส่วนของ apical meristem จากหัวของฟรีเซีย (*Freesia hybrida*) มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS พบว่า เกิด embryogenic callus ได้ และสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสต่อไป หรือให้เกิดเป็นต้นพืชได้ โดยการใช้ picloram (4-amino-3,5,6-trichloro-2-pyridinecarboxylic acid) และ 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) ซึ่งการใช้ picloram จะให้ผลดีกว่า

ในปีถัดมา Takayuki *et al.* (1993) เลี้ยงปลายยอดของกระเทียมในอาหารสูตร LS(Linsmaier and Skoog,1965) ที่เติม IAA (indol-3-yl acetic acid) และ BA อย่างละ 1 มคม (ไมโครโมล) พบว่า มีการแตกยอดใหม่ ซึ่งเมื่อย้ายไปเลี้ยงบนอาหารสูตร LS ที่เติม NAA 5 มคม และ BA 10 มคม จะทำให้จำนวนยอดเพิ่มมากขึ้น และยอดสามารถสร้างหัวขนาดเล็ก บนอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต

นอกจากนี้ยังมีงานทดลองของ Mohamed-Yasseen *et al.* (1994) ได้เลี้ยงปลายยอดของกระเทียม บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA, TZD (thidiazuron) และ NAA ความเข้มข้น 8, 0.15 และ 0.1 มคม ตามลำดับ พบว่ามีอัตราการเกิดหัวและยอดสูง ส่วนงานทดลองของ Koudou *et al.* (1995) ทำการทดลองกับกระเทียม โดยเลี้ยงปลายยอดบนอาหารที่มี 2,4-D 1-5 สตล (ส่วนต่อล้าน) พบว่าเกิดแคลลัสสีเหลือง ในขณะที่เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี NAA 1-5 สตล ได้แคลลัสที่มีสีเขียว นอกจากนี้ Hernandez *et al.* (1997) ใช้ปลาย ยอดเจริญของกระเทียมมาเลี้ยง เพื่อผลิตต้นที่ปราศจากไวรัส พบว่าขนาดปลายยอดเจริญที่เหมาะสม คือ 0.1-0.3 มม(มิลลิเมตร) และถ้าปลายยอดเจริญนั้นได้จากหัวที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10-12 มม จะทำให้ต้นใหม่ที่ได้ แข็งแรงกว่าการเลี้ยงปลายยอดเจริญที่ได้จากหัวที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 4-10 มม

Sotthikul and Apavatjrut (1996) ทำการขยายพันธุ์ *Curcuma roscoeana* ได้สำเร็จ โดยการเพาะเลี้ยงปลายยอด ขนาด 0.5 x 1 มม จากตาอ่อน บนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม kinetin 0.25 มก/ล สามารถเกิดต้นใหม่ได้

Jeong and Park (1997) ได้ทำการเลี้ยงปลายยอดของต้นหอม ในอาหารเหลวสูตร BDS (Dunston and Shot medium) ที่มีส่วนผสมของ อ๊อกซินและไซโตไคนิน พบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี picloram 0.5 มก/ล หรือ 2,4-D ร่วมกับ BA อย่างละ 1 มก/ล

ในปีเดียวกัน Kim *et al.* (1997) ได้ใช้ปลายยอด (meristem tip) ของฟรีเซีย เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 5 มก/ล และ BA 10 มก/ล สามารถพัฒนาเป็นแคลลัสและเกิดตาได้

5.1.2 การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนรากหรือหัวพืช

หรรษา และคณะ (2527) ได้ทดลองเลี้ยงรากสะสมอาหารของดองดึง (*Gloriosa superba* Linn.) บนอาหารสูตร MS พบว่าสามารถชักนำให้ชิ้นส่วน เกิดเป็นต้นอ่อนได้ โดยใช้ชิ้นส่วนปลายราก ที่มีขนาด 0.3 ลบ.ซม (ลูกบาศก์เซ็นติเมตร) ในขณะที่ตำแหน่งอื่น ชิ้นส่วนสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้

กานดา (2533) ได้ทดลองแบ่งหัวแกลดิโอลัสเป็น ส่วนบน ส่วนกลาง และส่วนล่าง เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี NAA 0.1 มก/ล และ kinetin 2 มก/ล พบว่า เนื้อเยื่อส่วนกลางหัวที่มีตาติดอยู่เจริญเติบโตได้ดีที่สุด รองลงมา คือ ส่วนบน

Nishuichi and Myodo (1977) ได้ใช้กลีบหัวของทิวลิป (tulip) หลายพันธุ์ เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี NAA หรือ 2,4-D พบว่าสามารถเกิดแคลลัสขึ้นได้ และในอาหารชนิดเดียวกันที่มี NAA 5 มก/ล และ kinetin มก/ล หรือมีทั้ง kinetin และ 2,4-D ความเข้มข้นอย่างละ 1 มก/ล สามารถทำให้เกิดลักษณะคล้ายยอด(shoot-like protuberance) ขึ้นได้ ส่วน adventitious root เกิดขึ้นเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มีอัตราส่วนของ NAA และ kinetin ที่เหมาะสม

นอกจากนี้ ยังมีงานทดลองของ Alderson *et al.* (1984) ได้นำกลีบหัวของทิวลิป พันธุ์ Merry Widow เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี casein hydrolysate และ NAA ตั้งแต่ 0-5 มก/ล และ BA 0-5 มก/ล พบว่า เกิดแคลลัสขึ้นได้ แต่การเกิดยอดน้อยกว่าการเลี้ยงก้านช่อดอกที่เลี้ยงบนอาหารที่มี NAA และ BA อย่างละ 1 มก/ล

มีการทดลองเกี่ยวกับลิลลี่ ในประเทศไทย โดย นภดล (2527) ได้เลี้ยงกลีบหัวของลิลลี่ พันธุ์ Teppoyuri และ Harson สามารถชักนำให้เกิดหัวย่อยได้ดีที่สุด เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ในสภาพที่มีแสง และทำการทดลองต่อโดยตัดแบ่งกลีบหัวย่อย พบว่าในทุกรูปแบบของการตัดแบ่งกลีบหัว สามารถเกิดใบและรากที่สมบูรณ์ได้ ในเวลา 2 เดือน

นอกจากนี้ยังมีการทดลองของ ภาณุ (2533) ได้ทดลองกับลิลลี่กลุ่ม Asiatic hybrid จากประเทศเนเธอร์แลนด์ จำนวน 15 พันธุ์ และ Trumpet lily พันธุ์ Hinomoto โดยเลี้ยงส่วนกลีบหัวขนาด 1x1 ซม (เซ็นติเมตร) บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก/ล น้ำตาลซูโครส 30 ก/ล (กรัมต่อลิตร) สามารถเกิดหัวย่อยได้ โดยบริเวณใกล้ฐานกลีบหัว เกิดหัวย่อยได้ดี และมีขนาดใหญ่กว่าส่วนเหนือฐานกลีบหัว หัวย่อยที่ได้ เจริญดีที่สุด ในอาหารที่มี NAA 0.1 มก/ล และน้ำตาลซูโครส 60 ก/ล

Novak and Petru (1981) รายงานการเลี้ยงกลีบหัวของลิลลี่ บนอาหารสูตร LS ที่มี BA และ NAA 5 และ 1 มคม ตามลำดับ พบว่าเกิดหัวย่อยขึ้นได้ ซึ่งสามารถได้ต้นจำนวนถึง 10,000-100,000 ต้นต่อหัวต่อปี ในขณะที่ Nimi (1987) ทดลองเลี้ยงกลีบหัวของ *Lilium rubellum* บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.3 มก/ล หรือ NAA 0.01-1 มก/ล ร่วมกับ BA 0.001-0.1 มก/ล พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสร้างหัวย่อยคือ 25 องศาเซลเซียส และพบว่ากลีบหัวที่เลี้ยงนั้นสามารถเกิดหัวย่อยได้ถึง 89 เปอร์เซ็นต์ โดยมีจำนวน 2-3 หัวย่อยต่อ 1 ชิ้นส่วนที่เลี้ยง ในสภาพมีแสงกลีบหัวสร้างหัวย่อยได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ในสภาพมืด มีกลีบหัวที่สร้างหัวย่อยเพียง 80 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตาม หัวย่อยที่เกิดในที่มืดมีน้ำหนักสดมากกว่าหัวย่อยที่เกิดในสภาพที่มีแสง นอกจากนี้ยังพบว่า NAA 0.05 หรือ 0.01 มก/ล กระตุ้นการสร้างหัวย่อยได้ แต่ถ้าความเข้มข้นสูงจะไปยับยั้งการสร้างหัวได้ ส่วน BA นั้น มีผลเล็กน้อย

Churikova and Barykina (1995) ได้ทำการทดลองกับ *Lilium* spp. โดยเลี้ยงชิ้นส่วนหัว พบว่าชิ้นส่วนหัวด้านใน สามารถชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้ดีกว่าชิ้นส่วนหัวด้านนอก และในปีเดียวกันนี้ Chavdarov and Denkova (1995) รายงานการเลี้ยงกลีบหัวของลิลลี่ บนอาหารสูตร LS ที่เติม BAP (benzylamino-purine) 1.5-2 มก/ล และ NAA 0.5 มก/ล ซึ่งเหมาะสมที่สุดที่จะ ชักนำให้เกิดตาพิเศษ ในปีถัดมา Kim *et al.* (1996) ได้ทดลองเลี้ยงกลีบหัวของ *Lilium* บนอาหารสูตร MS ที่มีน้ำตาล 90 ก/ล สามารถชักนำให้เกิดต้นเล็กๆได้ นอกจากนี้ยังมีการทดลองของ Haensch (1996) ได้เลี้ยงกลีบหัวของ *Lilium* บนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D สามารถชักนำให้เกิด somatic embryo และบางส่วนพัฒนาเป็นต้นเล็กๆได้ ส่วน Jeong (1996) รายงานว่าเมื่อใช้กลีบหัวของลิลลี่ เลี้ยงบนอาหารที่มี NAA 0.01 สตล และ BA 0.1 สตล พบการเกิดแคลลัสจำนวนมาก ในปีถัดมา Nimi *et al.* (1997) ได้เลี้ยงกลีบหัวของ *Lilium rubelium* พบว่ามีหัวเล็กๆเกิดขึ้น และเมื่อเปลี่ยนอาหาร 3 ครั้ง หัวเล็กๆเหล่านั้น สามารถพัฒนาเป็นต้นเล็กๆได้

Huang *et al.* (1990) ใช้กลีบหัวเดี่ยว (single-scale) ของว่านสี่ทิศ *Hippeastrum hybridum* เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม zeatin 1 มก/ล พบว่าเกิด 'plb' (protocorm-like body) ซึ่งสุดท้ายจะพัฒนาเป็นหัวขนาดเล็ก หรือถ้าจะให้เกิดหัวโดยตรง ต้องเลี้ยงกลีบหัวคู่ (twin-scale) ส่วนการเพิ่มปริมาณ 'plb' นั้น ทำโดยการเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม zeatin 1 มก/ล หรือเมื่อเติม IAA และ zeatin อย่างละ 1 มก/ล เกิดการพัฒนาเป็นหัวขนาดเล็กและยอด

Kil *et al.* (1990) รายงานว่า เมื่อเลี้ยงกลีบหัวชั้นในของหัวหอม บนอาหารสูตร MS พบว่าการเจริญเติบโตของใบหอมต้องการ kinetin 1, 10 และ 100 มคม และ IAA 1 และ 10 มคม นอกจากนี้ยังมีงานทดลองของ Lim *et al.* (1996) ทดลองเลี้ยงชิ้นส่วนหัวของ *Allium victorialis* var. *platyphyllum* บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.2 มก/ล และ zeatin 2 มก/ล ผลที่ได้คือ เกิด embryogenic callus ซึ่งเมื่อนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.2 มก/ล BAP 0.2 มก/ล และ picloram 1 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ และในปีเดียวกัน Barringer *et al.* (1996) ได้ทดลองผ่าครึ่ง basal plate ของ *Allium* spp. เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 4.4 มคม พบว่าเกิดยอดได้มากกว่าการไม่ใช้ BA

De Bruyn *et al.* (1992) รายงานว่าอัตราการเพิ่มปริมาณจากการเลี้ยงกลีบหัวคู่ของ *Amaryllis belladona* เกิดในอัตราสูงสุด เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 22.2 มคม และ NAA 0.54 มคม นอกจากนี้ยังพบว่า ความเข้มข้นของน้ำตาลมีความสำคัญต่อการเกิดต้นอ่อน โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 2-3 เปอร์เซ็นต์

Slabbert *et al.* (1993) รายงานว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดได้จากการเลี้ยงกลีบหัวคู่ ของ *Crinum macowanii* บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA และ BA โดยยอดเกิดจากส่วนของ epidermis และ hypodermis บนผิวด้าน abaxial ของเนื้อเยื่อ meristematic tissue ของส่วนฐานของหัว และพบว่า BA 1-20 มก/ล ทำให้เกิดหัวขนาดเล็ก โดยต้นอ่อน 34 เปอร์เซ็นต์ มีรากเกิดในอาหารที่มี BA 0-5 มก/ล และ NAA 0-20 มก/ล

Gabryzewska (1995) ได้ทดลองเลี้ยงไรโซมที่มีตาติดมาด้วยของอัลสโตรมีเรีย (Alstroemeria) โดยเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มก/ล และ NAA 0.5 มก/ล พบว่าสามารถเกิดยอดได้ แต่ถ้าเลี้ยงบนอาหารที่มี kinetin 2 มก/ล และ NAA 2 มก/ล ผลที่ได้คือ เกิดแคลลัส นอกจากนี้ Chiari and Bridgen (1996) ยังทำการทดลองเกี่ยวกับ ผลของอาหารที่ใช้เลี้ยงและพันธุ์ของ อัลสโตรมีเรีย โดยนำชิ้นส่วนไรโซมที่มีตา 1 ตา มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 9, 18 หรือ 36 มคม พบว่า BA ยับยั้งการเจริญของราก เมื่อเทียบกับการเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม BA แต่จะทำให้เกิดตาและยอดแตกต่างจากอาหารที่ไม่เติม BA

5.1.3 การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนก้านหรือต้น (stem)

สะอาด (2526) ได้ทำการเลี้ยงก้านช่อดอกอ่อนของแกลดิโอลัส บนอาหารสูตร MS ที่ดัดแปลงโดยใช้วิตามินของอาหารสูตร Nitsch and Nitsch และใช้ NAA 0.1 มก/ล ร่วมกับ BA 2.5 มก/ล พบว่า การเจริญเติบโตของส่วนปลายของก้านช่อดอกดีกว่าส่วนโคน และเนื้อเยื่อที่วางตั้งขึ้นตามทิศทางของช่อดอก เจริญได้ดีกว่าการวางในแนวนอน หรือการวางในแนวตั้งที่กลับทิศ

รงรอง (2528) ได้เลี้ยงก้านดอกตูมของกล็อกซีเนีย บนอาหารสูตร MS สามารถชักนำให้เกิดต้น และเพิ่มปริมาณต้นได้อย่างรวดเร็ว ในอาหารที่มี kinetin 2 มก/ล

สุพจน์ (2533) ได้ทำการทดลองเลี้ยงเยื่อเยื่อส่วนก้านช่อดอกของซ่อนกลิ่นไทย สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MMS (modified MS medium,1974) ที่เติม NAA 1.5 มก/ล ร่วมกับ kinetin 2 มก/ล โดยใช้เวลา 8 สัปดาห์ จากนั้นได้นำแคลลัสที่ได้นี้ไปเลี้ยงบนอาหารที่มี NAA 2 มก/ล หรือ อาหารที่มี NAA 2 มก/ล ร่วมกับ kinetin 2 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดรากที่มีลักษณะยาวเรียว

Rice *et al.* (1983) ได้ทดลองกับทิวลิป โดยนำเอาส่วนของก้านช่อดอก (floral stem) มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA และ BAP อย่างละ 1 มก/ล และ casein hydrolysate 500 มก/ล พบว่าเกิดยอดและหัวย่อย นอกจากนี้พบว่า การให้ GA_3 1 มก/ล เหมาะสมในการสร้างหัว นอกจากนี้ยังมีการทดลองของ Alderson *et al.* (1987) ได้เลี้ยงก้านดอกของทิวลิปพันธุ์ Merry Widow บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA และ BA อย่างละ 1 มก/ล จะเกิดยอดจากเซลล์ชั้นนอก ซึ่งยอดนี้สามารถเกิดจุดกำเนิดของหัว (bulb primordia) ที่โคนได้ หลังจากที่เลี้ยงในที่ที่มีอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12-16 สัปดาห์ การพัฒนาของจุดกำเนิดหัวจะถูกกระตุ้นโดยการย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่มี NAA ความเข้มข้น 1 มก/ล และมีหรือไม่มี BA 0.1 มก/ล การเลี้ยงไว้ในที่ที่มีอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 12 สัปดาห์ ตามด้วย 25 องศาเซลเซียส ช่วยกระตุ้นการสร้างหัวที่โคนยอด โดยยอดอายุ 12 เดือนที่นำมาทดลอง ให้ผลตอบสนองดีที่สุด การกระตุ้นให้เกิดหัวทำได้โดยการเพิ่มสารควบคุมการเจริญเติบโต และน้ำตาลในอาหารที่เลี้ยง การพัฒนาของก้านดอกของทิวลิปจนเกิดเป็นหัวขนาดเล็กนั้น

Le Nard and Chanteloube (1992) รายงานว่าการเลี้ยงต้นของทิวลิป บนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตความเข้มข้นต่างๆ สามารถเกิดตาพิเศษและหัวเล็กๆ ได้ โดยพันธุ์ Lucky Strike สามารถสร้างตาพิเศษได้สูงสุดบนอาหารที่มี NAA ความเข้มข้น 1 มก/ล ร่วมกับ BA 1 มก/ล และ 2iP 3 มก/ล ในขณะที่พันธุ์ Gander เกิดได้น้อยมาก แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ NAA เป็น 2 มก/ล BAP 1 มก/ล และ 2iP 5 มก/ล สามารถสร้างตาพิเศษเพิ่มขึ้น ในปีเดียวกันนี้ Hulscher *et al.*(1992) พบว่าเมื่อเลี้ยงส่วนของต้น และตาข้างของทิวลิป บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA, BAP และ 2iP อย่างละ 1, 1 และ 3 มก/ล ตามลำดับ หรือ NAA กับ zeatin อย่างละ 1 มก/ล จะเกิดการพัฒนาเป็นยอด

Chanteloube *et al.* (1995) ศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาของการเลี้ยงก้านช่อดอกทิวลิป เพื่อผลิตหัวในหลอดทดลอง ได้อธิบายว่ามีทั้งหมด 4 ขั้นตอนคือ ขั้นแรกจะเกิดโครงสร้างคล้ายใบ (leaf-like structure) หลังจากนั้นจึงเกิดตา (bud) และมีการพัฒนาเป็นหัวเล็กๆที่ฐานของ leaf-like structure ต่อมาหัวขนาดเล็กจะสร้างจุดกำเนิดราก สุดท้ายหัวเล็กๆเหล่านั้นจะพัฒนาและเจริญเติบโตต่อไป

Chung *et al.* (1986) รายงานว่าเมื่อนำเอาส่วนจากก้านช่อดอกของลิลลี่พันธุ์ Georgia มาเลี้ยงบนอาหารที่มี NAA 0.1 มก/ล และ kinetin 0.1 มก/ล เกิดการสร้างหัวย่อยในแต่ละชิ้นเป็นจำนวนมาก

5.1.4 การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบ

ชุติมา (2526) ได้เลี้ยงใบอ่อนบอนสีพันธุ์แดงวัว พันธุ์พระเจ้าแดนมาร์ก และพันธุ์นายทองแก้ว เจริญเป็นแคลลัสได้ดีที่สุดบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มก/ล ร่วมกับ BA 1 มก/ล ส่วนใบอ่อนของพันธุ์พันเรือง เกิดแคลลัสได้ดีบนอาหารที่เติม 2,4-D 1 มก/ล ร่วมกับ kinetin 1 มก/ล

Ishioka and Tanimoto (1994) ใช้ส่วนใบของ *Lilium longiflorum* เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี NAA 10 มคม และ BA 10 มคม ทำให้เกิดการสร้างหัวย่อยมากที่สุด และในปีเดียวกันนี้ Enaksha *et al.* (1994) ได้เลี้ยงใบอ่อนของ Easter lily ผลที่ได้คือเกิดแคลลัส ซึ่งสามารถนำไปทำการทดลองต่อไปได้

Ault (1996) ได้เลี้ยงชิ้นส่วนใบของ *Veltheimia bracteata* Bak. ซึ่งเป็นพืชหัวแถบ อัฟริกาใต้ ทำการทดลอง 2 พันธุ์ คือ Lemon Flame และ Rosalba บนอาหารที่เติม BA 8.87 มคม ร่วมกับ NAA 0.54 มคม สามารถชักนำให้เกิดยอดและเพิ่มจำนวนยอดได้

Lim *et al.* (1996) ได้ทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของใบโสม (ginseng) ได้ จากการเลี้ยงในหลอดทดลอง สามารถเกิดแคลลัสได้ เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D 1 มก/ล และ kinetin 0.1 มก/ล

Stimart and Mather (1996) ได้ทดลองกับ *Liatris spicata* (L.) Wild โดยเลี้ยงชิ้นส่วนของใบเลี้ยง พบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA 4.4 มคม ซึ่งแคลลัสเหล่านี้พัฒนาไปเป็นยอดได้

5.1.5 การเพาะเลี้ยงแคลลัส

ชุติมา (2526) รายงานว่าแคลลัสจากใบอ่อนบอนสีพันธุ์แดงวัวเจริญเติบโตดีที่สุดบนอาหารวุ้นที่มี IBA 0.5 มก/ล พันธุ์พระเจ้าแดนมาร์กเจริญดีเมื่อใช้ BA 1.5 มก/ล พันธุ์นายทองแก้วเจริญดีบนอาหารที่มี BA 1 มก/ล และพันธุ์พันเรืองเจริญดีเมื่อเติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์

Van Tran Thanh (1992) ได้เลี้ยงเนื้อเยื่อของแครอท (carrot) โดยใช้เทคนิค thin cell layer พบว่า 2,4-D ช่วยให้เกิดการแบ่งเซลล์เป็นแคลลัสได้ และเมื่อย้ายแคลลัสไปเลี้ยงบนอาหารที่ไม่มี 2,4-D เกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็น somatic embryo ได้

Kim and Lee (1993) ได้เลี้ยงเนื้อเยื่อของหัวแกลดิโอลัส บนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 10 มก/ล พบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ และเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่เติม 2,4-D 0.5 มก/ล มีลักษณะเป็น globular cluster เล็กๆ นุ่ม ร่วน และมีสีเหลืองใส ไม่มีคลอโรฟิลล์ และเมื่อทำการย้ายแคลลัสไว้บนอาหารใหม่จะได้แคลลัสที่สม่ำเสมอ นอกจากนี้มีบางพันธุ์ที่สร้างแคลลัสพร้อมกับ somatic embryos หรือ organogenesis เมื่อใช้ 2,4-D 0-5 มก/ล ในการย้ายไว้บนอาหารใหม่ ครั้งที่ 1 และ 2,4-D 0.1-1 มก/ล ในการย้ายครั้งที่ 2

ในปีถัดมา Stefaniak (1994) รายงานว่า friable embryogenic callus และ somatic embryo ของแกลดิโอลัส 4 พันธุ์ เกิดในอาหารสูตร MS ที่เติมอ๊อกซินความเข้มข้นต่างๆ โดยเลี้ยงจากชิ้นส่วนของหัว ฐานใบอ่อน และใบอ่อน และเมื่อนำ somatic embryo ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้

Famelaer *et al.* (1996) ได้รายงานการเลี้ยงแคลลัสให้เป็นต้นใหม่ จากเนื้อเยื่อของ ทิวลิป (*Tulipa gesneriana*) โดยเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D พบว่าเกิดแคลลัส 4 ชนิด คือ แคลลัสที่มีลักษณะแห้ง ร่วน นิ่ม สีขาว ชนิดที่สองคือ แคลลัสที่มีผิวเรียบ เกาะกันแน่นแข็ง สีขาว ส่วนชนิดที่สามมีลักษณะฉ่ำน้ำ ร่วน นิ่ม ใส และ ชนิดที่สี่เป็นแคลลัสที่มีลักษณะเกาะกันแน่นเป็นก้อนกลม แข็ง ผิวเรียบ สีขาว จากการทดลองสรุปได้ว่า แคลลัสที่สามารถชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้คือแคลลัสชนิดที่ 2 และชนิดที่ 4 เท่านั้น

Babu *et al.* (1996) ได้ใช้แคลลัสที่เกิดจากการเลี้ยงรังไข่ของต้นขิง ซึ่งเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BAP 10 มก/ล และ 2,4-D 0.2 มก/ล พบว่าเกิด embryogenic callus และเกิด globular embryoid-like structure สีขาว ซึ่งสามารถพัฒนาเป็นต้นใหม่ได้ บนอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต

Wang *et al.* (1996) ได้เลี้ยง translucent nodular callus ที่ได้จากการเลี้ยงดัภพะของฟรีเซีย บนอาหารสูตร MN6 ที่มี NAA 0.3 มก/ล BAP 0.5 มก/ล และ kinetin 0.5 มก/ล พบว่าแคลลัสบางส่วนเกิดตา (bud)

5.2 การใช้สารควบคุมการเจริญ เติบโตบางชนิดในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืช

ถึงแม้ว่าพืชทุกชนิดจะต้องการธาตุอาหารหลักที่เหมือนกัน แต่ความต้องการในเชิงปริมาณหรือความเข้มข้นจะแตกต่างกันไป โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารควบคุมการเจริญเติบโต จะมีความแตกต่างผันแปรกันไปอย่างยิ่ง (ประศาสตร์,2536) สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ส่วนใหญ่แล้วจะใช้ออ๊อกซิน และไซโตไคนิน ซึ่งพีรเดช (2529) กล่าวว่า

5.2.1 สารควบคุมการเจริญเติบโตที่อยู่ในกลุ่มอ๊อกซิน

สารควบคุมการเจริญเติบโตที่จัดอยู่ในกลุ่มอ๊อกซิน มีอยู่หลายชนิด เช่น IAA ซึ่งเป็นสารที่พืชสร้างขึ้นเอง นอกจากนี้ยังมีสารอ๊อกซินสังเคราะห์ ที่นิยมกันทั่วไปมีบางชนิด ได้แก่ NAA IBA (4-(indol-3-yl) butyric acid) 2,4-D โดยมีคุณสมบัติที่เหมือนกัน คือ เป็นสารเร่งการเจริญเติบโต มีผลต่อการแบ่งเซลล์กระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์ การยืดตัวของเซลล์ และยังมีผลกระตุ้นการเกิดราก การเจริญเติบโตในส่วนต่างๆของพืช

5.2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโตที่อยู่ในกลุ่มไซโตไคนิน

พืชสามารถสร้างไซโตไคนินขึ้นมาใช้ในการเจริญเติบโตได้ ในรูปของสารซีอาติน (zeatin) ส่วนสารสังเคราะห์ในกลุ่มของไซโตไคนิน ได้แก่ ไคเนติน (kinetin) BAP (6-benzylaminopurine) สารในกลุ่มนี้มีผลต่อการแบ่งเซลล์ และกระตุ้นการเจริญทางด้านลำต้นของพืช กระตุ้นการเจริญของตาข้าง ที่ใช้กันมากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือเพื่อกระตุ้นการเจริญของก้อนแคลลัส ให้พัฒนาเป็นลำต้น

อย่างไรก็ตาม การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตแต่ละชนิด หรือการนำมาใช้ร่วมกันในสัดส่วนที่แตกต่างกัน เมื่อใช้กับพืชต่างชนิดกัน สามารถกระตุ้นให้เนื้อเยื่อพืชมีการเจริญ และพัฒนาไปเป็นยอด ราก หรือ ต้นอ่อนได้ ดังเช่นตัวอย่างการทดลองกับพืชหัวหลายชนิด ดังแสดงใน ตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สารควบคุมการเจริญเติบโตบางชนิดที่นำมาใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชหัว โดยเติม ลงในอาหารสูตร MS

ชื่อนักวิทยาศาสตร์	ชื่อพืช/พันธุ์ หรือ ชนิด	ชิ้นส่วน	สารควบคุมการเจริญเติบโตและความเข้มข้น (มก/ล)					ผลการทดลอง
			2,4-D	NAA	IAA	BAP	kinetin	
ศาลักษณ์ (2525)	ว่านสี่ทิศ พันธุ์ Caroussel Excelsio Scarlet Leader Rembrandt Rilona	กลีบหัว	0.3	X	X	X	X	แคลลัสต้นอ่อน
ศาลักษณ์ (2526)	ว่านสี่ทิศ	กลีบหัว	0.5-1	X	X	X	X	ต้นใหม่
Mujib *et al.* (1991)	ว่านสี่ทิศ พันธุ์ลูกผสม	ตาดอกอ่อน	X	X	X	0.5	X	ยอด
วิไลลักษณ์ (2524)	แกลดิโอลัส พันธุ์ Spic&Span	ยอด ตา ข้างตา ยอด	X	X	X	0.1-0.20.0.1-6	X	ต้นแขนง ยอดเพิ่ม
สะอาด (2533)*	แกลดิโอลัส	ก้านช่อดอก ตายอด	X X	0.1 0.1	X X	1-2 X	X X	ตายอดต้น แขนง เกิดราก

หมายเหตุ : * = อาหารสูตร MS ดัดแปลงใช้วิตามินของอาหารสูตร Nitsch and Nitsch

X = ไม่ได้ใช้

ตารางที่ 1 (ต่อ) สารควบคุมการเจริญเติบโตบางชนิดที่นำมาใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชหัว โดยเติมลงในอาหารสูตร MS

ชื่อนักวิทยาศาสตร์	ชื่อพืช/พันธุ์หรือชนิด	ชิ้นส่วน	สารควบคุมการเจริญเติบโตและความเข้มข้น (มก/ล)					ผลการทดลอง
			2,4-D	NAA	IAA	BAP	Kinetin	
อรุณีและสมปอง (2535)	กล็อกซีเนีย	ก้านใบ	X	X	1	X	5	ยอด
Babu *et al.*(1993)	จิง พันธุ์ Maran	ช่อดอกอ่อน	0.2	X	X	10	X	ตายอด
จามจุรี (2533)	กระเจียวแดง *Curcuma roscoeana* Wall.	ปลาย ยอด	X X	X X	X X	X X	0.25 0.5	ยอด เพิ่มปริมาณยอด
อรอุบล (2534)	ปทุมมา/ *Curcuma sparganifolia* Gagnep.	หัว(1) หัว(2)	X X	X X	X X	3 X	X 0.36	ยอด ยอด
จุฑารัตน์ (2535)**	ปทุมมา/ *C. alismatifolia* Gagnep.	หัว	X	X	X	3	X	ยอด

หมายเหตุ: ** = อาหารสูตร MS + น้ำตาล 4.5 %

(1) = ทั้งผ่าแบ่งและไม่ผ่าแบ่งหัว

(2) = เฉพาะผ่าแบ่งหัวเท่านั้น

ตารางที่ 1 (ต่อ) สารควบคุมการเจริญเติบโตบางชนิดที่นำมาใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชหัว โดยเติมลงในอาหารสูตร MS

ชื่อนักวิทยาศาสตร์	ชื่อพืช/พันธุ์ หรือ ชนิด	ชิ้นส่วน	สารควบคุมการเจริญเติบโตและความเข้มข้น (มก/ล)					ผลการทดลอง
			2,4-D	NAA	IAA	BAP	Kinetin	
Winnaar (1989)	ขมิ้น *Curcuma longa*	ตา	X	X	X	1	X	ยอด
Balachandran *et al.* (1990)	*Curcuma* spp.	ตา	X	X	X	3	X	ยอด
Keshava-chandran &. Khader (1991)***	*Curcuma* sp	ตา	X	X	X	1	1	ยอด
Jehan *et al.* (1994)	ไอริส *Iris pallida* Lam.	แคลลัส	1	X	X	X	0.1	Embryogenic callus
ชุติมา (2526)	บอนสี/ แดงวัว, พระเจ้าเดนมาร์ก, นายทองแก้ว, พันเรือง	ใบอ่อน ใบอ่อน	X 1	 X	X X	1 X	X 1	แคลลัส แคลลัส

หมายเหตุ: *** = อาหารสูตร MS + น้ำตาล 4 %