บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

หงส์เหินเป็นพันธุ์ไม้ประดับประเภทหัว อยู่ใน Family Zingiberaceae Tribe Globba ใน Tribe นี้มี 2 สกุล คือ *Gagnepainia* กับ *Globba* หงส์เหินจัดอยู่ใน Genus *Globba* (Larsen,1980) หรือที่รู้จักกันในกลุ่ม ต้นดอกเข้าพรรษา ว่านไก่แจ้ (จำลอง, 2539) ว่านร่อนทอง (ไทย เกาะหงัน) ว่านขอทอง (สระบุรี) กล้วยจ๊ะก่าหลวง (ลำพูน) กล้วยจั่น กล้วยเครือคำ (เชียงใหม่) (เต็ม, 2523)ในประเทศพม่าเรียก ดอกพเด็งโงหรือช่างทองร้องไห้ ซึ่งมีตำนานเล่าว่ามีผู้พบดอกไม้ชนิดนี้ในป่าและเกิดความประทับใจจึงนำมาให้ช่างทองทำเป็นเครื่องประดับแต่ช่างทองไม่สามารถทำเลียนแบบความอ่อนช้อยของปลายช่อดอกที่อ่อนงอคล้ายคอหงษ์ได้ถึงกับร้องไห้ออกมา (นิรนาม, 2541) พรรณไม้กลุ่มนี้สามารถขึ้นทั่วไปในเขตร้อนชื้นภายใต้ร่มเงาของไม้ใหญ่ มีศูนย์กลางการกระจายพันธุ์อยู่ในบริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบหนาแน่นในแถบมาเลเซีย สุมาตรา ชวา บอร์เนียว และประเทศไทย (Larsen, 1980) ในป่าเมืองไทยมีพืชสกุล *Globba* ขึ้นกระจัดกระจายอยู่ทุกภาค อาจมีมากถึง 40 ชนิด จากการสำรวจพบว่าแถบภาคเหนือและภาคกลางมีความหลากหลายของพันธุ์สูงกว่าภาคอื่นๆ แต่ยังไม่มีการศึกษาทบทวนด้านอนุกรมวิธาน (พวงเพ็ญ, 2539) จากการศึกษาจำนวนโครโมโซมของพืชสกุล *Globba* ในประเทศไทยจำนวน 13 ชนิด พบว่า *Globba winitii* Wright มีโครโมโซม n=16 2n= 3X=48 (กำปั่น, 2541) ส่วนการใช้ประโยชน์สามารถนำเอาส่วนหัวมาทำยาสมุนไพรแก้พิษผี พิษงู พิษตะขาบแมลงป่อง แก้ท้องเสีย ช่วยเจริญอาหารและใช้เป็นไม้ประดับบ้านได้อย่างสวยงาม (เสงี่ยม, 2522)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ทั่วไป (อดิศร, 2541)

Globba เป็นพืชไม่มีเนื้อไม้มีอายุหลายปี ใบร่วงตามฤดูกาล มีความสูงประมาณ 40 ซม

<u>ลำต้น</u> เป็นลำต้นใต้ดินลักษณะเป็นเหง้า (rhizome) สั้นๆทอดไปตามพื้นดิน ด้านนอกสีน้ำตาลอ่อน ด้านในสีครีม มีกลิ่นหอม (ภาพ 1)

<u>ราก</u> ระบบรากเป็นรากฝอย อวบ สีน้ำตาลอ่อน เมื่อผ่าดูเนื้อเยื่อภายในมีสีขาว

ใบ เป็นใบเดี่ยว แยกออกเป็นสองแนวตรงกันข้ามในระนาบเดียวกัน แผ่นใบบาง ใบเป็นรูปหอกขนาด 9 - 18 x 3 - 5.5 ซม ปลายใบเรียวแหลม ขอบใบเรียบ เส้นใบเป็นแบบขนาน เส้นกลางใบเด่นชัด

ภาพ 1 ลักษณะลำต้นและรากของหงส์เหิน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ดอก เป็นดอกสมบูรณ์เพศ กลีบดอกสีส้ม มี 3 กลีบ เกสรตัวผู้มี 1 อัน ก้านชูอับละอองเรณูบริเวณส่วนบนมีลักษณะโค้ง สีครีม ยอดเกสรตัวเมียมีลักษณะกลม ก้านชูยอดเกสรตัวเมียยาวคล้ายเส้นด้ายสีครีม (ภาพ 2)

ช่อดอก เป็นแบบ raceme ช่อดอกจะเกิดบริเวณปลายยอด ลักษณะดอกซึ่งมีใบประดับ (bract) มีสีขาวรองรับจะห้อยลงด้านล่างก่อนแล้วจึงตั้งตรงขึ้น

ผล เป็นแบบ capsule

ภาพ 2 ดอกและใบของหงส์เหิน

ภาพ 3 ต้นหงส์เหินขณะออกดอก

วงจรการเจริญเติบโต

หงส์เหินเป็นไม้หัวอายุหลายปี ในวงจรการเจริญเติบโตหนึ่งๆ ต้นหงส์เหินจะมีช่วงอายุการเจริญเติบโตประมาณ 7-8 เดือน โดยเริ่มมีการเจริญเติบโตและออกดอกในช่วงฤดูฝน เมื่อพ้นช่วงการเจริญทางลำต้นและการออกดอกแล้วใบจะเริ่มเหี่ยวแห้งยุบตัวลง และเข้าสู่ระยะพักตัวเป็นเวลา 4-5 เดือนในช่วงฤดูหนาวแล้วจะเริ่มงอกใหม่หลังจากที่พ้นระยะพักตัว คือ ต้นฤดูฝนในปีถัดไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University

สภาพการปลูกเลี้ยงและการขยายพันธุ์

กำปั่น (2541) รายงานว่าหงส์เหินชอบดินที่มีการระบายน้ำและอากาศได้ดี วัสดุปลูกที่เหมาะสมจึงควรเก็บความชื้นได้ ถ้าปลูกจาก rhizome ควรใช้ ขุยมะพร้าว : ทรายหยาบ : แกลบดิบ อัตราส่วน 5 : 3 : 2 ดินที่มีลักษณะเป็นดินเหนียวไม่ควรใช้ ความเข้มแสงที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของหงส์เหิน คือ ที่ 6,000 ลักซ์ อุณหภูมิสูงเกิน 35 องศาเซลเซียส จะทำให้แตกกอน้อย รากสั้น และมีขนาดเล็กลง ในช่วงวันยาวสามารถชักนำให้ต้นหงส์เหินเจริญเติบโตได้โดยต้นไม่ยุบตัว มีการแตกหน่อตามปกติและสามารถออกดอกได้ การปลูกลงแปลงจะได้รากสะสมอาหารที่มีขนาดใหญ่และยาวกว่าการปลูกในกระถาง

การขยายพันธุ์ทำได้หลายวิธี ได้แก่ การขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด การแยกหัว และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นต้น

การศึกษาด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหงส์เหินที่ผ่านมายังมีน้อยมากส่วนใหญ่เป็นการรายงานการศึกษาพืชในกลุ่มไม้ดอกประเภทไม้หัวอื่น ซึ่งส่วนใหญ่เป็นการศึกษาเพื่อการขยายพันธุ์ โดยมีรายงานการศึกษาถึงการนำเนื้อเยื่อส่วนต่างๆของพืชมาเลี้ยง เช่น ชิ้นส่วนของหัว ใบ ตา ดอก และรังไข่ เป็นต้น ตลอดจนมีการศึกษาถึงส่วนประกอบของธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง สารอินทรีย์ สารควบคุมการเจริญเติบโต ตลอดจนเทคนิคที่แตกต่างไปตามชนิดของพืช และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนที่นำมาเลี้ยง ในระยะ 15 ปีที่ผ่านมามีการศึกษาในพืชสกุลหงส์เหินและพืชกลุ่มไม้ดอกประเภทหัวใกล้เคียง ซึ่งพอจะจำแนกรายงานที่เกี่ยวข้องได้ตามชนิดของพืชดังนี้

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชกลุ่มหงส์เหิน และสกุลต่างๆในวงศ์ Zingiberaceae

หงส์เหิน *(Globba)*

Parkinson *et al.* (1996) ทดลองใช้ sodium dichloroisocyanurate เป็นสารฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อพืชหลายชนิด เช่น *Quercus robur* , *Spatyphyllium (Spathiphyllum)* cv. Petite, *Globba winitii, Calathea exotica* และ *Anthurium* cv. Southern Blush ซึ่งพบว่ามักมีเชื้อแบคทีเรียปนเปื้อนมาก โดยเฉพาะ *Pseudomonas, Xanthomonas* และ Actinomycetes. โดยใช้ได้ผลดีเพราะ sodium dichloroisocyanurate มีความเสถียรทั้งที่อยู่ในรูปแบบเม็ด และในรูปของสารละลาย โดยพบว่าสามารถใช้ความเข้มข้น 5000 สตล จึงจะมี ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อยอดอ่อนของ *Spatyphyllium* ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่สูงกว่าสารที่ใช้ฟอกฆ่าเชื้อโดยทั่วไปที่ใช้ทางการค้า แต่ผลที่เป็นพิษต่อเนื้อเยื่อพืชนั้นน้อยกว่า และหากใช้ในความเข้มข้น 300 สตล จะต้องใช้ระยะเวลานานขึ้นในการฆ่าเชื้อ โดยสรุปแล้วสามารถใช้

sodium dichloroisocyanurate เป็นสารใช้ฟอกฆ่าเชื้อได้ชนิดหนึ่งเช่นเดียวกับ mercuric chloride และ calcium hypochlorite.

วรรณพร (2541) ได้ศึกษาผลของ BA และพาโคลบิวทราโซล (paclobutrazol) ต่อการเจริญเติบโตของหงส์เหินสีม่วง ในสภาพปลอดเชื้อโดยนำส่วนต้น 3 ขนาดมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลงโดยใช้ธาตุอาหารหลักเจือจางเพียงครึ่งหนึ่งของสูตรปกติ เติมน้ำมะพร้าวอัตรา 150 มล/ล sucrose 30 ก/ล และ BA เข้มข้น 0, 1.0 และ 2.0 มก/ล ร่วมกับพาโคลบิวทราโซล เข้มข้น 0, 0.1, 1.0 และ 10 มก/ล พบว่าเมื่อความเข้มข้นของ BA และพาโคลบิวทราโซลเพิ่มขึ้นทำให้ความสูงของต้นลดลง แต่มีจำนวนหน่อเพิ่มขึ้น โดยที่ BA เข้มข้น 2.0 มก/ล ร่วมกับพาโคลบิวทราโซล เข้มข้น 10 มก/ล ทำให้ต้นมีความสูงน้อยที่สุดแต่มีจำนวนหน่อมากที่สุดและเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BA ขึ้นทำให้เกิดรากลดลง โดยที่ BA เข้มข้น 2.0 มก/ล ทำให้มีรากน้อยที่สุด แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของพาโคลบิวทราโซลขึ้น ทำให้จำนวนใบมีมากขึ้นโดยที่พาโคลบิวทราโซลเข้มข้น 10 มก/ล ทำให้มีใบมากที่สุด

Pobudkiewicz and Podwyszynska (1999) ได้ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อพัฒนาหงส์เหิน *Globba winitii* ให้เป็นไม้กระถาง โดยใช้สาร flurprimidol ความเข้มข้นตั้งแต่ 0, 7.5, 15, 22.5 และ 30 มก/ล ฉีดพ่นทางใบ และทำการราดลงดินโดยใช้ความเข้มข้น 0.075, 0.15, 0.225 และ 0.3 มก/กระถางเมื่อต้นมีความสูงประมาณ 6-8 ซม พบว่าความเข้มข้นของการฉีดพ่นทางใบที่ 15 มก/ล และการราดให้ทางดินที่ความเข้มข้น 0.075 มก/กระถาง สามารถทำให้ใบมีขนาดเล็กลงได้ และยังพบว่าสารนี้ไม่มีผลต่อช่วงระยะเวลาของการออกดอกและจำนวนยอดใหม่ที่จะเกิดขึ้นแต่จะมีผลต่อใบพืชเพราะจะทำให้ใบมีสีเขียวเข้มขึ้นกว่าต้นปกติที่ปลูกเลี้ยงในสภาพธรรมชาติ

พืชกลุ่มกระเจียว *(Curcuma)*

Yasuda *et al.* (1988) ได้ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตและสารอินทรีย์บางชนิดต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและการเจริญเติบโตของตากระเจียว 3 ชนิดคือ *Curcuma zedoaria Curcuma domestica* และ *Curcuma aromatica* โดยนำส่วนตาของลำต้นใต้ดินมาเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่มี NAA kinetin และ BA ที่ความเข้มข้นต่างๆกันโดยเลี้ยงในสภาพอุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส ได้รับแสงที่ความเข้ม 2,000 ลักซ์ 12 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 1 เดือน พบว่ากระเจียวทั้ง 3 ชนิด สามารถชักนำให้ตาเจริญเติบโตเป็นยอดได้เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี NAA ความเข้มข้น 1.0 มก/ล และ kinetin 0.1 มก/ล และเกิดยอดจำนวนมากขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้นข้น BA เป็น 3.0 มก/ล นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลของน้ำมะพร้าว สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) cassamino acid NAA และ kinetin ที่ความเข้มข้นต่างๆกันต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส พบว่าอาหารที่มี NAA ความเข้มข้น 0.1 มก/ล ร่วมกับ kinetin 0.3 มก/ล น้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ และ cassamino acid 0.1 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้

เกิดแคลลัสจากตาของ *Curcuma domestica* และ *Curcuma aromatica* ยกเว้น *Curcuma zedoaria* จะสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ NAA มากขึ้นเป็น 10-100 เท่า

จามจุรี (2533) ได้ศึกษาถึงชิ้นส่วนของกระเจียวแดง (*Curcuma roscoeana* Wall.) โดยนำส่วนรอยต่อระหว่างรากกับลำต้นของต้นอ่อนที่ได้จากการเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อที่มีอายุ 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์ นำมาเลี้ยงบนอาหารวุ้นและอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม kinetin 0.5 มก/ล โดยเลี้ยงภายใต้สภาพอุณหภูมิ 28±2 องศาเซลเซียส ได้รับแสงที่ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนต้นกล้าที่อายุ 4, 6 และ 8 สัปดาห์เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดมากกว่าชิ้นส่วนจากต้นกล้าอายุ 2 สัปดาห์ โดยสามารถชักนำให้เกิดจำนวนต้นสูงสุดเฉลี่ย 2.5-3.1 ต้นต่อชิ้นส่วน ส่วนอาหารพบว่าอาหารเหลวมีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตมากกว่าอาหารวุ้น และยังพบว่าเมื่อนำส่วนโคนต้นที่ได้มาเลี้ยงบนอาหารที่มี kinetin ความเข้มข้น 0.25 มก/ล สามารถให้ยอดใหม่และเพิ่มจำนวนมากขึ้นเมื่อย้ายลงในอาหารใหม่ โดยชิ้นส่วนขนาด 10 มม ตัดแบ่งครึ่งตามยาวเป็นขนาดที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่ 2.8 ยอดต่อชิ้นส่วน (Sotthikul and Apavatjrut, 1996) นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อนำส่วนโคนต้นที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อมาเลี้ยงบนอาหารที่มี NAA ความเข้มข้น 0-8.0 มก/ล และ kinetin ความเข้มข้น 0-0.5 มก/ล พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยให้จำนวนยอดใหม่ 3.1 ยอดต่อชิ้นส่วน และเมื่อใช้ BAP ความเข้มข้น 0-8.0 มก/ล สามรถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ 2.8-3.7 ยอดต่อชิ้นส่วน และความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 1.0 มก/ล สามารถเกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุดที่ 3.7 ยอดต่อชิ้นส่วน การเลี้ยงชิ้นส่วนบริเวณโคนต้นบนอาหารสูตร MS โดยเติม kinetin หรือ BAP อย่างใดอย่างหนึ่ง สามารถใช้ในการขยายพันธุ์ *C. roscoeana* ได้ (Sotthikul and Apavatjrut, 1997)

ทิพย์สุดา (2540) ได้ศึกษาการชักนำให้เกิดต้นใหม่จากช่อดอกและตาข้างของกระเจียวพลอยทักษิณ A 033 (*Curcuma aurantiaca* van Zijp) โดยเลี้ยงช่อดอกอ่อนและตาจากหน่อ บนอาหารวุ้นสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตหลายชนิดในระดับความเข้มข้นต่างๆกันโดยเลี้ยงไว้ภายใต้อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ได้รับแสงที่ความเข้ม 1,700 ลักซ์ 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าสามารถชักนำให้เกิดต้นเฉลี่ย 0.8-2.2 ต้นต่อชิ้นส่วน เมื่อเลี้ยงตาตำแหน่งที่ 2 จากโคนหน่อบนอาหารที่มี BAP ความเข้มข้น 3.0 มก/ล เมื่อนำต้นที่ได้ไปขยายพันธุ์ต่อไปโดยใช้ส่วนรอยต่อระหว่างรากกับลำต้นที่มีขนาดความยาว 0.3-1.0 ซม ผ่าแบ่งครึ่งตามยาวไปเลี้ยงในอาหารสูตรเดิม พบว่าเกิดจำนวนต้นเฉลี่ย 1.3-1.9 ต้นต่อชิ้นส่วน นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมะพร้าว 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ นอกจากจะไม่มีผลต่อการเกิดต้นแล้วยังทำให้จำนวนต้นเฉลี่ยและความสูงของต้นลดลง

สุพัตรา (2541) ได้ศึกษาการเจริญเติบโตของแคลลัสและเซลล์แขวนลอยที่ได้จากลำต้นของกระเจียวที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าการเลี้ยงชิ้นส่วนรอยต่อระหว่างรากกับลำต้นขนาด 10 มม ของต้นอ่อนกระเจียว (*Curcuma* sp.) เบอร์ 50 สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เมื่อเลี้ยงบนอาหารวุ้น

MS ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 0.125 มก/ล การเลี้ยงชิ้นส่วนบนอาหารที่มี 2,4-D ร่วมกับ BAP หรือ BAP อย่างเดียวมีผลส่งเสริมการเจริญเติบโตทางยอดมากกว่าการเกิดแคลลัส

ปทุมมา *(Curcuma)*

การศึกษาส่วนใหญ่เป็นการศึกษาผลของไซโตไคนินและชิ้นส่วนที่นำมาเลี้ยงรวมถึงสภาพแวดล้อมต่างๆที่มีผลต่อการพัฒนาเป็นต้นหรือยอดซึ่งมีรายงานดังนี้

อรอุบล (2534) ได้รายงานการตอบสนองของชิ้นส่วนปทุมมา (*Curcuma sparganifolia* Gagnep.) ในอาหารที่เพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก โดยใช้ชิ้นส่วนตาที่ได้จากหัวนำมาผ่าครึ่งตามยาวและไม่ผ่า เลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่มี BA หรือ kinetin ระดับความเข้มข้นต่างๆกัน โดยเลี้ยงภายใต้สภาพอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มแสง 1,300-1,700 ลักซ์ 12 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าปทุมมาสามารถตอบสนองต่อ BA ได้ดีกว่า kinetin โดยชิ้นส่วนที่ผ่าแบ่งครึ่งเกิดจำนวนยอดเฉลี่ย 4.83 ยอดต่อชิ้นส่วน และชิ้นส่วนที่ไม่ผ่าเกิดยอดเฉลี่ย 3.50 ยอดต่อชิ้นส่วน เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 3.0 มก/ล แต่การเลี้ยงชิ้นส่วนที่ไม่ผ่าหัวบนอาหารที่มี kinetin ความเข้มข้น 0.36 มก/ล เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยเพียง 1.47 ยอดต่อชิ้นส่วน

จุฑารัตน์ (2535) ศึกษาผลของ BA และ sucrose ต่อการเกิดยอดของปทุมมา (*Curcuma alismatifolia* Gagnep.) และขมิ้นชัน (*Curcuma longa* Linn.) จำนวน 2 โคลน (clone) คือ Accession no.06068801 และ Accession no. 15038802 โดยใช้ส่วนโคนต้นที่มีความยาว 2.5 ซม มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA และ sucrose ที่ความเข้มข้นต่างๆกัน โดยเลี้ยงภายใต้สภาพอุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส ได้รับแสงที่ความเข้ม 2,000 ลักซ์ 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 2 เดือน พบว่าทั้งปทุมมาและขมิ้นชันสามารถเกิดยอดได้จำนวนมากเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 3.0 มก/ล และ sucrose 3 เปอร์เซ็นต์ โดย Accession no. 15038802 เกิดยอดมากกว่า Accession no. 06068801 นอกจากนี้ยังพบว่าขมิ้นชันแต่ละโคลนต้องการความเข้มข้นของน้ำตาลแตกต่างกันในการเจริญเติบโต โดยความเข้มข้นของน้ำตาลที่ทำให้ใบมีความยาวมากที่สุดสำหรับขมิ้น Accession no. 15038802 และ Accession no. 06068801 คือ 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

Wannakrairoj (1992) ได้รายงานการชักนำให้เกิดต้นจำนวนมากจากชิ้นส่วนตาของเหง้าปทุมมา (*Curcuma alismatifolia* Gagnep.) โดยนำไปฆ่าเชื้อในน้ำอุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียส 5-10 นาที ช่วยลดการเกิดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพ ต่อมาในปี 1997 ได้รายงานว่าส่วนตาที่เลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 0, 6.67, 13.32, 19.98, 26.64 มคม/ล ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.19, 0.56, 1.67 และ 5.0 มคม/ล และ sucrose ที่ความเข้มข้น 2, 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 13.32 มคม/ล สามารถชักนำให้เกิดต้นได้มากที่สุดและ sucrose ที่ความเข้มข้นต่างๆ ให้ผลไม่แตกต่างกัน (Wannakrairoj,1997)

ขมิ้น (*Curcuma Longa* Linn.)

Nadgauda *et al.* (1978) ได้เพาะเลี้ยงตาจากหัวขมิ้นพันธุ์ Duggirala และ Tekurpeta บนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติมน้ำมะพร้าว kinetin และ BA หรืออาหารสูตร Smith ดัดแปลง ที่เติมน้ำมะพร้าว kinetin และ myo-inositol ต้นที่เกิดขึ้นเจริญเติบโตได้ดีเมื่อย้ายลงในอาหารเหลวสูตร White ที่มี sucrose 2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสามารถเกิดรากจำนวนมาก รากแข็งแรงและนำออกปลูกเลี้ยงภายนอกได้ดี

Shetly *et al.* (1982) ได้ศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสจากส่วนตาของขมิ้นสายพันธุ์ 15B โดยนำตาจากเหง้ามาเลี้ยงบนอาหารวุ้น MS ที่มี kinetin ความเข้มข้น 0.2-0.5 มก/ล น้ำตาล 4 เปอร์เซ็นต์ pH 5.6 สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส ที่มี "green spot" ซึ่งเมื่อนำไปเลี้ยงในสภาพที่มีแสง สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นและรากได้

Winnaar (1989) ได้รายงานการเกิดยอดจากตาของขมิ้น ที่นำมาเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้นต่างๆกัน ภายใต้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ได้รับแสง 2,000 ลักซ์ 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 3-4 สัปดาห์ สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 8.0 ยอดต่อชิ้นส่วนเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 1.0 มก/ล และน้ำตาล 2 เปอร์เซ็นต์

Keshavachandran and Khader (1991) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขมิ้น 2 สายพันธุ์ คือ CO.1 และ BSR.1 เพื่อหาชิ้นส่วนและอาหารที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์ โดยใช้ชิ้นส่วนตาจากเหง้า (rhizome) มาเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่มี kinetin ความเข้มข้น 1.0 มก/ล และ BA ความ เข้มข้น 1.0 มก/ล น้ำตาล 4 เปอร์เซ็นต์ พันธุ์ CO.1 เกิดยอดเฉลี่ย 2.5 ยอดต่อชิ้นส่วน และพันธุ์ BSR.1เกิดยอดเฉลี่ย 2.11 ยอดต่อชิ้นส่วน

Rout *et al.* (1995) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขมิ้นสายพันธุ์ Suroma และ PTS-28 นำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ซึ่งเติม BA ความเข้มข้น 4.0 มก/ล IAA 1.0 มก/ล และ adenine sulfate ความเข้มข้น100-150 มก/ล พบว่าการเพิ่มหรือลดความเข้มข้นของ BA และ IAA ในอาหาร ช่วยลดการเกิดยอดต้นใหม่สามารถเกิดรากได้ดีในอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นลงครึ่งหนึ่ง และเติม IBA หรือ IAA ที่ความเข้มข้น 0.25-0.5 มก/ล น้ำตาล 2 เปอร์เซ็นต์ ต้นกล้าสามารถย้ายปลูกในกระถางที่มีเครื่องปลูก ทราย : ดิน : ขี้วัว อัตราส่วน (1: 2 : 1) ในโรงเรือนที่มีการควบคุม หลังจากนั้น 1 เดือน สามารถย้ายออกปลูกได้ โดยมีอัตราการรอดตายถึง 95 เปอร์เซ็นต์

ขิง (*Zingiber officinale* Rosc.)

การศึกษาด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีค่อนข้างมาก ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นการศึกษาเกี่ยวกับ สูตรอาหาร อายุ ชิ้นส่วนต่างๆที่นำมาเพาะเลี้ยง พันธุ์ และปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งรวบรวมได้ดังนี้

ฐิติภาส (2530) ได้รายงานการผลิตต้นใหม่จากตาข้างของขิงเพื่อผลิตต้นพันธุ์ที่ปราศจากเชื้อที่ทำให้เกิดโรคเหี่ยวอันมีสาเหตุมาจากเชื้อราและแบคทีเรีย โดยนำตาข้างมาเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่มี BA ร่วมกับ streptomycin ที่ความเข้มข้นต่างๆกัน ภายใต้อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ 16 ชั่วโมงต่อวันเป็นเวลา 1 เดือน สามารถชักนำให้เกิดจำนวนต้นมากที่สุด 3.6 ต้นต่อชิ้นส่วน เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 10.0 มก/ล ร่วมกับ streptomycin ที่ความเข้มข้น 500.0 มก/ล

เบญจพร (2536) ได้นำเนื้อเยื่ออ่อนของขิง มาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายเมอคิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ที่ความเข้มข้น และเวลาต่าง ๆ กัน พบว่า ที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที ช่วยให้วัสดุพันธุ์พืชปลอดเชื้อดีที่สุดถึง 90 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS (1962) ที่มี NAA และ BA ที่ความเข้มข้น 1.0 มก/ล เท่ากัน พบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก แต่ไม่พบการเกิดแคลลัสเลย

Balachandran *et al.* (1990) ได้เลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนตาของเหง้า บนอาหารสูตร MS พบว่าการเกิดยอด ขึ้นอยู่กับระดับของ BAP และ kinetin โดยพบว่าความเข้มข้นของ BAP ที่เหมาะสมที่สุดคือ 3.0 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดยอดได้เป็นจำนวนมาก ต่อมา Dogra *et al.* (1995) รายงานว่าสามารถขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขิงจำนวน 2 พันธุ์ คือ SG 666 และ SDR ได้เมื่อใช้เนื้อเยื่อลักษณะเช่นเดียวกัน โดยเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2.5 มก/ล และ NAA 0.5 มก/ล ซึ่งพบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดได้เป็นจำนวนมาก และเมื่อย้ายไปเลี้ยงบนอาหารที่เติม NAA 1.0 มก/ล สามารถกระตุ้นให้เกิดราก จึงทำให้สามารถย้ายต้นอ่อนไปปลูกในแปลงได้

Inden *et al.* (1990) สามารถทำการผลิตต้นขิงได้ถึง 750,000 ต้นหรือมากกว่าภายในระยะเวลา 1 ปี โดยการเพาะเลี้ยงส่วนยอดจากหัวพันธุ์บนอาหารดัดแปลงสูตร MS ที่เติม BA 5.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล และน้ำตาลซูโครส 20.0 ก/ล ซึ่งพบว่า 1 ชิ้นส่วนที่เลี้ยงจะพัฒนารากและต้นได้ 4 ต้น ภายในระยะเวลา 9 สัปดาห์ โดยมีความสูงระหว่าง 20–30 มม ในระยะเวลา 6 สัปดาห์ ซึ่งอัตราการเจริญนี้จะไม่ลดลงในการขยายพันธุ์ครั้งต่อ ๆ ไป เมื่อศึกษาทางด้านเซลล์วิทยา พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของจำนวนโครโมโซม

Malamug *et al.* (1991) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในขิง (*Zingiber officinale* Rosc.) พันธุ์ Kintoki โดยนำส่วนตาจากเหง้าที่มีความยาวประมาณ 1.0-1.5 ซม มาเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่มี NAA หรือ 2,4-D และ BAP ที่ความเข้มข้นต่างๆกัน ภายใต้อุณหภูมิ 24±3 องศาเซลเซียส ทั้งที่มืดและ

ที่มีแสง เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี NAA ความเข้มข้น 0.5 มก/ล และ 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 มก/ล ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 0.5-1.0 มก/ล หลังจากนั้นเมื่อนำแคลลัสที่ได้มาเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมพบว่าสามารถเพิ่มปริมาณแคลลัสได้ และในปีถัดมา Malamug *et al.* (1992) ได้รายงานว่าเมื่อนำแคลลัสที่ได้มาเลี้ยงบนอาหารที่มี NAA และ BAP ที่ความเข้มข้น ต่างๆกันเพื่อชักนำให้เกิดยอดและราก พบว่าเมื่อเลี้ยงนาน 1 เดือน แคลลัสสามารถพัฒนาไปเป็นยอดและรากได้มากน้อยต่างกันขึ้นอยู่กับสัดส่วนความเข้มข้นที่เหมาะสมของ NAA และ BAP โดยสามารถพัฒนาไปเป็นยอดได้มากเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี BAP เพียงอย่างเดียว ความเข้มข้น 1.0-3.0 มก/ล หรืออาหารที่มี NAA ความเข้มข้น 1.0 มก/ล ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 5.0 มก/ล

Babu *et al.*(1992) ได้รายงานผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตบางชนิดต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส และการเจริญพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์จากส่วนใบอ่อนขิงพันธุ์ Maran โดยพบว่า สามารถชักนำให้ใบเกิดแคลลัสได้เมื่อเลี้ยงบนอาหารวุ้น MS ที่มี 2,4-D 9.0-22.6 ไมโครกรัม และเกิด แคลลัสได้มากที่สุดเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรเดียวกันเมื่อเติม 2,4-D 13.6 ไมโครกรัมซึ่งชิ้นส่วนที่ใช้เลี้ยงเกิดแคลลัสได้ถึง 87 เปอร์เซ็นต์

Babu *et al.*(1993) ได้รายงานการเลี้ยงส่วนช่อดอกอ่อนของขิง บนอาหารวุ้น MS ที่มี 2,4-D 0.2 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ และเมื่อนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตรเดียวกันที่มี BA ความเข้มข้น 10 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดต้นได้ และเมื่อย้ายไปเลี้ยงบนอาหารที่มี NAA ความเข้มข้น 1.0 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดรากจำนวนมากและนำออกปลูกต่อไปได้

Choi (1993) ได้รายงานตำแหน่งชิ้นส่วนลำต้นที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสขิงโดยใช้ชิ้นส่วนลำต้น โคน กลาง และส่วนยอด เลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่มี NAA และ BA ความเข้มข้นต่างๆกันพบว่าส่วนกลางของลำต้นสามารถตอบสนองได้ดีที่สุด สามารถเกิดยอดและรากจำนวนมากเมื่อเลี้ยงบน NAA ที่ความเข้มข้น 0.1-1.0 มก/ล และBA ที่1.0 มก/ล นอกจากนี้ยังสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในอาหารที่มี NAA 0.5 มก/ล

Choi and Kim (1993) ได้นำเอาชิ้นส่วนปลายยอดขิงมาเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่มี NAA และ BA ความเข้มข้น 0.5 มก/ล ซึ่งสามารถพัฒนาไปเป็นต้นจำนวนมากได้ดีที่สุด

Kacker *et al.* (1993) ได้กระตุ้นให้เกิด embryogenic callus ของขิงพันธุ์ Eruttupetta จากใบอ่อนบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติมสารกระตุ้นการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน คือ IAA NAA 2,4-D และ Dicamba ที่ความเข้มข้นต่างๆ ภายใต้สภาพอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ได้รับแสงความเข้ม 2,000 ลักซ์ 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 3-4 สัปดาห์ โดยพบว่าการใช้ Dicamba ที่ความเข้มข้น 2.7 ไมโครโมลมีประสิทธิภาพกระตุ้นให้เกิด embryogenic callus สูงสุดถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การใช้ IAA และ NAA ไม่ช่วยให้เกิด embryogenic callus เลย และ embryogenic callus ที่เกิดขึ้นสามารถ

กระตุ้นให้เกิดต้นได้ในอาหารที่เติม BA 8.9 ไมโครโมล ส่วน 2,4-D ที่ความเข้มข้น 4.5 ไมโครโมลชักนำได้รองลงมา และแคลลัสที่ได้แบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ slow growing callus และ fast growing callus และพบว่าเมื่อย้าย fast growing callus ไปเลี้ยงบนอาหารสูตรเดียวกันสามารถเกิดยอดได้มากที่สุด 58 เปอร์เซ็นต์ และสามารถนำออกปลูกได้

Sharma and Singh (1995) ได้รายงานการผลิตหัวพันธุ์ขนาดเล็กของ *Zingiber officinale* โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากต้นในอาหารเหลวสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BA 1.0 มก/ล calcium pantothenate 2.0 มก/ล GA_3 0.2 มก/ล NAA 0.05 มก/ล ซึ่งช่วยให้เกิดต้นในเวลา 4 สัปดาห์ และพัฒนาหัวพันธุ์เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติม BA 8.0 มก/ล และ sucrose 75 ก/ล หลังจากการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส ในที่มืดเป็นเวลา 20 วัน หัวพันธุ์ที่มีตาประมาณ 1-4 ตา น้ำหนัก 73.8-459 มก สามารถนำออกปลูกเมื่ออายุประมาณ 50-60 วัน และหลังจากเก็บรักษาหัวพันธุ์ไว้ในทรายที่มีความชื้นที่อุณหภูมิห้อง พบว่าประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ ของหัวพันธุ์มีการงอกของยอดและราก

Haung (1996) ได้เพาะเลี้ยงส่วนปลายยอดของขิงขนาด 0.2- 0.9 มม บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.6 มก/ล พบว่ามีการเกิดยอดและรากได้ดีโดยมีอัตราการเจริญประมาณ 6 เท่าใน 1 เดือน ในอาหารที่เพิ่ม manitol 3 เปอร์เซ็นต์ โดยเพาะเลี้ยงที่ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสงประมาณ 1,200 ลักซ์ และพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม ส่วนการเพาะเลี้ยงใบในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.6 มก/ล เกิดยอดและรากได้เช่นกัน

Pandey *et al.* (1997)ได้รายงานการเลี้ยงเนื้อเยื่อขิง (*Zingiber officinale*) พันธุ์ 'King Yai' โดยนำตาจากเหง้าของ *Z.officinale* มาฆ่าเชื้อที่บริเวณผิวและนำปลายยอดไปเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 3.0 มก/ล พบว่าได้ต้นปลอดเชื้อจากชิ้นส่วนที่นำไปเลี้ยง 18 เปอร์เซ็นต์ ปลายยอดที่ไม่เกิดการปนเปื้อนถูกย้ายไปเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 5.0 มก/ล เพื่อให้ยอดเกิดการเจริญเติบโต หลังจากนั้นย้ายไปเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มี Tween 40 ปริมาณ 2.0 มล/ล โดยแบ่งส่วนหนึ่งใส่สารเร่งการเจริญเติบโต และอีกส่วนไม่ใส่ การเพิ่ม BA ความเข้มข้น 5.0 มก/ล ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มก/ล และ Sueprise ความเข้มข้น 4.0 มก/ล โดยนำต้นพืชไปเลี้ยงในที่มีอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,600 ลักซ์ แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน พบว่าอาหารสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 5.0 มก/ล ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มก/ล ทำให้เกิดยอดต่อชิ้นส่วนพืชสูงที่สุด โดยเกิดยอดโดยเฉลี่ย 5.33 ยอดต่อชิ้นส่วน และเมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ นอกจากนี้ยังทำให้ยอดมีความยาวมากที่สุด ส่วนอาหารที่มีส่วนประกอบของ Tween 40 และไม่มีสารเร่งการเจริญเติบโต ทำให้ชิ้นส่วนเกิดยอดต่อชิ้น และ จำนวนใบ และความยาวยอดต่ำที่สุด

Palai *et al.* (1998) ได้รายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขิง (*Zingiber officinale* cv. Suruchi and Suprabha.) ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4.0-6.0 มก/ล IAA ความเข้มข้น 1.0-1.65 มก/ล และ adenine sulfate ความเข้มข้น 100 มก/ล น้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถเกิดยอดได้ดีในอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 4-6 มก/ล แต่การเกิดยอดลดลงเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 6 -8 มก/ล ในขณะที่เนื้อเยื่อที่เลี้ยงบนอาหารที่มี IAA รวมอยู่ด้วย ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง และความเข้มแสงที่เหมาะสมควรอยู่ในช่วง 14-24 ชม/วัน การเกิดยอดจะลดลงเมื่อมีความเข้มแสงน้อยกว่า 14 ชม/วัน นอกจากนี้ยังรายงานว่า NAA, IBA และ 2, 4-D ไม่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดและทำให้การเกิดยอดลดลง หากต้องการให้ออกรากให้ย้ายลงในอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นลงครึ่งส่วน และเติม IBA หรือ IAA ความเข้มข้น 0.5-1.0 มก/ล และ sucrose 2 เปอร์เซ็นต์ อาหารเหลวทำให้การออกรากได้ผลน้อยกว่าที่เลี้ยงในอาหารวุ้นและเมื่อย้ายปลูกสามารถรอดตายได้ 95-98 เปอร์เซ็นต์

Rajan *et al.* (1998) ได้รายงานการชักนำชิ้นส่วนเหง้าของขิงให้เกิด microrhizome พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 0.3 มก/ล, NAA 0.1 มก/ล และ ancymidol 0.5 มก/ล sucrose 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถชักนำให้เกิด microrhizome ได้มากที่สุด

Sharma (1999) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขิง (*Zingiber officinale* Rosc cv. Himachal Local) ซึ่งเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม Kinetin 2 มก/ล และน้ำตาล 20 ก/ล ยอดใหม่ที่เกิดขึ้นเฉลี่ย 7.7 ยอดต่อชิ้นส่วน ภายใน 4 สัปดาห์ สูง 6.8 ซม. และมีรากยาว 7 ซม. หากต้องการย้ายออกปลูกต้องเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม kinetin ความเข้มข้น 2 มก/ล และ NAA ความเข้มข้น 2 มก/ล น้ำตาล 20 ก/ล และเมื่อย้ายออกปลูกรอดตายถึง 95 เปอร์เซ็นต์

De Freitez and De Casares (1999) ได้รายงานการเลี้ยงเนื้อเยื่อจากปลายยอดขิงในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารสูตร MS ที่มี BA 2.0, 2.5 หรือ 3.0 มก/ล และ NAA 0 หรือ 0.25 มก/ล โดยเลี้ยงในที่มีแสง 2,500 ลักซ์ อุณหภูมิ 24$\pm$2 องศาเซลเซียส และ ความชื้นสัมพัทธ์ 70 เปอร์เซ็นต์ ยอดมีการเพิ่มปริมาณขึ้น หลังจากนั้นนำไปเลี้ยงในอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 2.0-3.0 มก/ล ในที่มีแสง 3,500 ลักซ์ พบว่าเกิดการพัฒนาของตาข้าง และรากได้ดี โดยเฉพาะในอาหารที่มี BA 2.5 หรือ 3.0 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนจากเชื้อแบคทีเรีย 1.7 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการชักนำให้เกิด organogenesis บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.0 และ 1.0 มก/ล 2, 4-D ความเข้มข้น0.5, 1.0 และ 1.5 มก/ล dicamba ความเข้มข้น 0.4, 0.6 และ 0.8 มก/ล และ Pandock agar ความเข้มข้น 7 ก/ล พบว่าไม่สามารถชักนำให้เกิด embryogenesis ได้ แต่อย่างไรก็ตามมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นคือได้เนื้อเยื่อที่มีลักษณะคล้ายแคลลัสจากชิ้นส่วนเหง้าที่นำไปเลี้ยงบนอาหารที่เติม 2,4-D ในทุกระดับความเข้มข้น พืชสามารถปรับตัวได้ดีเมื่อใช้ความเข้มแสง 8,500 ลักซ์ เป็นเวลา 7 วัน หลังจากย้ายลงปลูกในกระบะทราย และสรุปว่าจากวิธีนี้สามารถขยายพืชได้ถึง 70,000 ต้นต่อเหง้าต่อปี

Arimura *et al.* (2000) ได้ศึกษาการเจริญเติบโตและพัฒนาการของขิง (*Zingiber officinale* Rosc.) บนอาหารสูตร MS ที่มีความแตกต่างของ NAA ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 0.75 และ 1.0 มก/ล และ BAP ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มก/ล ในอาหารวุ้นและอาหารเหลว พบว่า NAA ช่วยเพิ่มความสูงของยอดทั้งในอาหารเหลวและในอาหารวุ้น และที่ความเข้มข้น 0.5 มก/ล เกิดจำนวนรากได้มากที่สุดและให้ความยาวรากสูงสุด ส่วน BAP มีอิทธิพลต่อจำนวนยอด โดยในอาหารวุ้นที่ความเข้มข้น 1.0 มก/ล สามารถเกิดยอดได้มากที่สุด แต่ในอาหารเหลว พบว่าอาหารที่ไม่มี BAP กลับเกิดยอดขึ้นได้มากที่สุด ความสูงของต้นได้รับอิทธิพลร่วมของ NAA และ BAP ส่วนจำนวนรากและความยาวรากถูกกระตุ้นให้เกิดได้ดีในอาหารเหลวที่ไม่มีฮอร์โมนมาเกี่ยวข้อง

ดาหลา (*Etlingera elatior*)

อภิชาติ (2539) ได้เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดของเหง้า บนอาหารวุ้นสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตหลายชนิดและหลายสัดส่วนความเข้มข้น ภายใต้สภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน พบว่าปลายยอดสามารถพัฒนาไปเป็นยอดสูงสุด 1.05-1.35 ยอดต่อชิ้นส่วน เมื่อนำชิ้นส่วนปลายยอดแบ่งครึ่งตามยาวมาเลี้ยงบนอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 1.0-4.0 มก/ล และ sucrose 2-3 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมะพร้าวที่ความเข้มข้นต่างกันไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของดาหลา

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในพืชไม้ดอกประเภทหัวชนิดอื่น

Le Nard and Chanteloube (1992) พบว่าเมื่อเลี้ยงต้นของทิวลิปบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตความเข้มข้นต่างๆ สามารถเกิดตาพิเศษและหัวเล็กๆได้ โดยพันธุ์ Lucky Strike สามารถสร้างตาพิเศษได้สูงสุดบนอาหารที่มี NAA ความเข้มข้น 1.0 มก/ล ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 มก/ล และ 2iP ความเข้มข้น 3.0 มก/ล ในขณะที่พันธุ์ Gander เกิดได้น้อยมาก แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ NAA เป็น 2.0 มก/ล BAP 1.0 มก/ล และ 2iP 5.0 มก/ล สามารถสร้างตาพิเศษเพิ่มขึ้น

Hulscher *et al.* (1992) รายงานว่าเมื่อเลี้ยงส่วนของต้นและตาข้างของทิวลิปบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA, BAP และ 2iP ความเข้มข้น 1.0, 1.0 และ 3.0 มก/ล ตามลำดับหรือ NAA ความเข้มข้น 1.0 มก/ล และ zeatin ความเข้มข้น 1.0 มก/ล จะเกิดการพัฒนาเป็นยอดและเมื่อนำยอดไปเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม NAA ความเข้มข้น0.1 มก/ล และ BAP ความเข้มข้น 0.3 มก/ล จากนั้นย้ายเลี้ยงบนอาหารที่สูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน เกิดการพัฒนาเป็นหัวขนาดเล็กจากยอด

Dabrowski *et al.* (1992) รายงานผลของ ฮอร์โมนบางชนิดที่ชักนำให้เกิดการเจริญเติบโตของหัวใหม่ที่ได้จากส่วนฐานของหัวเดิมในลิลลี่พันธุ์ Sonnentiger พบว่าเมื่อนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 มก/ล 2ip ความเข้มข้น 0.3 มก/ล และ kinetin ความเข้มข้น 3.0 มก/ล

สามารถชักนำให้เกิดหัวใหม่ได้ดีที่สุด หากต้องการให้เกิดรากเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดรากได้ หากเติม kinetin หรือ 2ip จะยับยั้งการเกิดราก

Chang and Criley (1993) ได้ใช้เวลาถึง 9 เดือนในการกระตุ้นให้มีการพัฒนาต้นและรากของ Pink gingers (*Alpinia purmurata* (Veill) K. Schum.) โดยใช้กลีบประดับจากช่อดอกของพันธุ์ Ginoza Hybrid No. 5 โดยใช้เวลา 5 เดือนในการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ดัดแปลง ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และน้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ pH 5.6 หลังจากนั้นเมื่อย้ายไปเลี้ยงบนอาหารที่เติม Difco Bacto agar 0.8 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25–26 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน หลังจากนั้นใช้เวลา 1 เดือน ในการพัฒนาต้นและรากบนอาหารวุ้นสูตร MS ดัดแปลง โดยใช้ครึ่งส่วน (0.5 MS) และเติม BA 4.4 ไมโครโมล และน้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์

Chanteloub *et al.* (1995) ได้อธิบายการพัฒนาของก้านดอกของทิวลิป จนเกิดเป็นหัวขนาดเล็กว่าเกิดได้ทั้งหมด 4 ขั้นตอน คือ ขั้นแรกจะเกิด leaf-like structure หลังจากนั้นจะเกิดตา และมีการพัฒนาเป็นหัวขนาดเล็กๆที่ฐานของ leaf-like structure ต่อมาหัวขนาดเล็กจะสร้างจุดกำเนิดราก จากนั้นขั้นสุดท้าย หัวเล็กๆเหล่านั้นจะพัฒนาและเจริญเติบโตต่อไป

Stimart and Mather (1996) รายงานว่านำส่วนใต้ใบเลี้ยงที่เกิดจาก embryo ของ *Liatris spicata* (L.) Wild. (Blazing Star) มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 0.4, 4.4 และ 44.4 ไมโครโมล หรือ TDZ ความเข้มข้น 0, 0.2, 2.2, และ 22.2 ไมโครโมล เพื่อกระตุ้นให้เกิดตายอด พบว่าส่วนใต้ใบเลี้ยงที่เกิดตาได้ดีที่สุดในอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2.2 ไมโครโมล ส่วนในอาหารที่เติม BA นั้นพบว่าที่ความเข้มข้น 4.4 ไมโครโมล สามารถเกิดเป็นแคลลัสได้มากกว่า ที่เลี้ยงบน TDZ ความเข้มข้น 2.2 ไมโครโมล ตายอดที่เกิดจากส่วนใต้ใบเลี้ยงโดยตรงและที่ได้จากแคลลัส สามารถเกิดรากได้เมื่อย้ายลงเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมล และเมื่อนำออกปลูกได้ตรงตามพันธุ์

Nayak *et al.* (1997) ได้ศึกษาการเกิดยอดโดยตรงจากชิ้นส่วน foliar ของกล้วยไม้ *Acampe praemorsa* (Roxb.) Blatter and McCann บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5-5.0 มก/ล, BA ความเข้มข้น 1.0-10.0 มก/ล, kinetin ความเข้มข้น 1.0-10.0 มก/ล และ TDZ ความเข้มข้น 0.01-2.0 มก/ล พบว่าอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มก/ล ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 มก/ล มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการชักนำให้เกิดยอด หากใช้ NAA ความเข้มข้นต่ำไม่สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ และหากใช้ความเข้มข้นสูงเกินไปจะยับยั้งการเกิดยอด ส่วน kinetin, BA และ TDZ สามารถชักนำให้เกิดยอดและช่วยขยายความกว้างของใบได้ หากต้องการชักนำให้เกิดรากเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 1.0 มก/ล เมื่อโตเต็มที่สามารถย้ายออกปลูกได้

Sajina *et al.* (1998) ได้ศึกษาวิธีการขยายพันธุ์พืชสมุนไพรหลายชนิดในสภาพปลอดเชื้อ เช่น anise, dill, fennel, lavender และ sage โดยใช้ส่วนปลายยอด และตาจากต้นกล้าที่เลี้ยงในสภาพปลอด

เชื้อเป็นเนื้อเยื่อเริ่มต้น พบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5-1.25 มก/ล และยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงสามารถเก็บรักษาไว้ในอาหารเดิมได้ถึง 4–12 เดือน โดยไม่ต้องมีการเปลี่ยนอาหาร

Cheol *et al.* (1998) ได้ศึกษาผลของฮอร์โมนอ๊อกซินและไซโตไคนิน ที่มีต่อการเจริญเติบโตของหน่อใหม่ของ Dutch Iris cv Blue Magic ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าการใช้ IBA ความเข้มข้น 0.2 มก/ล ให้ผลดีที่สุด โดยเนื้อเยื่อมีการแตกยอดใหม่ได้ 71 เปอร์เซ็นต์ โดยสามารถเกิดยอดใหม่ได้ 1.0 ยอดต่อชิ้นส่วน ความเข้มข้นของ BAP ที่เหมาะสมคือ 0.1 มก/ล สามารถเกิดยอดใหม่ได้ 0.7 ยอดต่อชิ้นส่วน

Mohamed-Yasseen (1999) รายงานการนำเอาชิ้นส่วนช่อดอกอ่อนของพลับพลึง *(Crinum asiaticum* L.) มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 4.4, 8.8 และ 13.3 ไมโครโมล ร่วมกับ NAA 0.5 ไมโครโมล เลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนช่อดอกอ่อนเกิดเป็นยอดอ่อนได้ภายหลังจากเลี้ยงในอาหารที่มี BA และ NAA ที่ความเข้มข้น 4.4 และ 0.5 ไมโครโมล ยอดใหม่ที่ได้สามารถพัฒนาเป็นหัวใหม่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3-4 มม ในอาหารที่มีน้ำตาล 60 ก/ล

Ziv and Lilien Kipnis (2000) ได้ศึกษาการนำเอาก้านช่อดอกของพืชหลายชนิด เช่น ก้านช่อดอกหอม แกลดิโอลัส ไฮยาซินต์ นาร์ซิสซัส เนรีน และ ออนิโธกาลัม นำไปเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารพื้นฐาน MS ที่มีความเข้มข้นของ BA, NAA, kinetin และ 2,4-D หลายระดับพบว่าสามารถชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้อย่างรวดเร็วโดยมีการปนเปื้อนของเชื้อน้อยกว่าชิ้นส่วนเริ่มต้นที่ได้จากลำต้นใต้ดินแปรรูป

การใช้เทคนิค Thin cell layers ในงานขยายพันธุ์พืช

การใช้เทคนิคนี้พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณต้นพืชได้เป็นจำนวนมากในเวลาอันสั้น ได้มีการทดลองกับพืชหลายชนิดดังนี้

Tran Thanh Van (1973) รายงานการเลี้ยงเนื้อเยื่อแบบ Thin Cell Layers (TCLs) เป็นการลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีความบางมาก 0.1-0.3 มม โดยการตัดเนื้อเยื่อตามขวางหรือตัดตามยาวผ่านชั้นต่างๆของพืช โดยมีชั้น epidermis หรือ cortical cells จำนวน 3 ถึง 6 ชั้น การเลี้ยงโดยใช้ TCLs นี้สามารถชักนำให้เกิดยอดหรือต้นพืช โดยตรงโดยไม่ผ่านแคลลัสได้

Tran Thanh Van *et al.* (1974) รายงานการใช้ชิ้นส่วนบริเวณก้านช่อดอกของยาสูบ (*Nicotiana tabacum)* โดยใช้เทคนิค TCLs สามารถชักนำให้เกิดตาดอกได้ โดยใช้ NAA และ kinetin ความเข้มข้น 10^{-6} โมล และ sucrose 3 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพแสง หากต้องการให้เกิดตายอดใช้ฮอร์โมนอ๊อกซินและไซโตไคนินความเข้มข้นหนึ่งในสิบส่วนของการชักนำให้เกิดตาดอก โดยใช้ sucrose ความเข้มข้นเดียวกัน หากต้องการให้เกิดรากให้ใช้ kinetin ความเข้มข้น 10^{-7} โมล IBA ความเข้มข้น 10^{-5} โมล และ

sucrose ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงในที่มืด และการเกิดแคลลัสสามารถเกิดขึ้นได้เมื่อเติม 2,4-D ความเข้มข้น $5x10^{-6}$โมล kinetin ความเข้มข้น 10^{-7}โมล และ sucrose ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์

Cousson (1981) รายงานการเลี้ยงเนื้อเยื่อของยาสูบโดยใช้เทคนิค TCLs เลี้ยงในอาหารเหลว และอาหารวุ้น พบว่าอาหารวุ้นสามารถชักนำให้เนื้อเยื่อเกิดตาดอกได้แต่ในอาหารเหลวไม่สามารถเกิดได้แต่กลับเกิดตายอดแทน ในการชักนำให้เกิดตาดอกนั้นเกิดจากปัจจัยหลายอย่าง เช่น ความเข้มข้นของฮอร์โมนในอาหาร ความเป็นกรด ด่างในอาหาร ตลอดจนเส้นผ่าศูนย์กลางของลูกปัด (glass beads) ที่นำมาใส่ในอาหารเหลว

Lakshmanan *et al.* (1995) รายงานการเลี้ยงกล้วยไม้ *Aranda deborah* โดยนำปลายยอดขนาด 6-7 มม มาตัดตามขวางโดยใช้เทคนิค TCLs ให้มีขนาด 0.6-0.7 มม เลี้ยงบนอาหารสูตร VW ที่เติมน้ำมะพร้าว 20 เปอร์เซ็นต์ สามารถเกิดเนื้อเยื่อลักษณะคล้าย protocorm (PLB) ขึ้นจำนวน 13.6 ยอด หลังจากเลี้ยงนาน 45 วัน เมื่อเทียบกับการเลี้ยงโดยใช้ชิ้นส่วนขนาดใหญ่ 6-7 มม ซึ่งสามารถให้ยอดใหม่ได้เพียง 2.7 ยอด ในอาหารสูตรเดียวกันเมื่อเติม NAA ความเข้มข้น 2.75 ไมโครโมล พร้อมด้วยน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ และผงถ่าน 0.5 ก/ล พบว่าการตัดแบบ TCLs ได้จำนวนต้นพืชใหม่มากกว่า 80,000 ต้น หากใช้เนื้อเยื่อขนาดใหญ่จะได้เพียง 11,000 ต้นเท่านั้น

Le *et al.* (1999) รายงานการเลี้ยงเนื้อเยื่อส้ม (*Poncirus trifoliata*) โดยใช้เทคนิค TCLs การตัดเนื้อเยื่อส่วนปล้องของส้มอายุ 1 ปี ชักนำให้เกิดตายอดในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1-50 ไมโครโมล และ TDZ ความเข้มข้น 0.1-10 ไมโครโมล พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการชักนำให้เกิดตาใหม่ได้ดีคือที่ BAP ความเข้มข้น 25 ไมโครโมล และ TDZ ความเข้มเข้ม 1.0 ไมโครโมล สามารถชักนำให้เกิดตาใหม่ได้ 24 และ 15 ตาต่อชิ้นส่วน โดยเกิดได้ถึง 87 และ 72 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อใช้ BAP และ TDZ ร่วมกันที่ความเข้มข้น 10 และ 1 ไมโครโมล สามารถเกิดตาได้ 37 ตาต่อชิ้นส่วน โดยเกิดมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นยอดสามารถยืดยาวเมื่อย้ายลงบนอาหารที่มี GA_3 ความเข้มข้น 1.0 ไมโครโมล การชักนำให้เกิดรากโดยใช้ NAA ความเข้มข้น 5.0 ไมโครโมล การชักนำให้เกิดยอดนี้สามารถเกิดได้โดยตรงโดยไม่ผ่านแคลลัสภายหลังจากเลี้ยงได้ 9 สัปดาห์

Le *et al.* (1999) รายงานการเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้เทคนิค TCLs ในกล้วยไม้ *Rhynchostylis gigantea* โดยการตัดตายอดตามขวาง โดยมีความบาง 0.3-0.5 มม เนื้อเยื่อที่นำมาทดลองอายุ 1 ปี เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP, NAA และ TDZ และ sucrose 3 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเมื่อเติม BAP และ TDZ ความเข้มข้น 3.0 ไมโครโมล สามารถเกิดยอดได้ 11.7 ยอดต่อชิ้นส่วน หากชักนำให้เกิดรากต้องใช้ forchlorfenuron ความเข้มข้น 10 ไมโครโมล และ sucrose 1 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงได้ 4-6 สัปดาห์มีความสูง ประมาณ 3.0 ซม