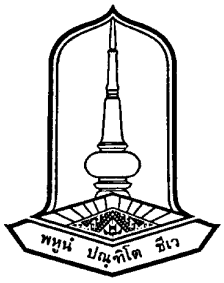


การขยายพันธุ์กระทือ (*Globba marantina* L.) และกระทือลิง (*G. schomburgkii* Hook. F) ในหลอดทดลอง

ภัทราพร พิมพ์หมื่น

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา
ธันวาคม 2557
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

Mahasarakham University

การขยายพันธุ์กระทือ (*Globba marantina* L.) และกระทือลิง (*G. schomburgkii* Hook. F) ในหลอดทดลอง

ภัทราพร พิมพ์หมื่น

เสนอต่อมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา
ธันวาคม 2557
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

Mahasarakham University

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ได้พิจารณาวิทยานิพนธ์ของนางสาวภัทราพร พิมพ์หมื่น แล้วเห็นสมควรรับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....	ประธานกรรมการ
(ผศ.ดร.อภิเดช แสงดี)	(อาจารย์บัณฑิตศึกษาประจำคณะ)
.....	กรรมการ
(ผศ.ดร.ปิยะพร แสนสุข)	(อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก)
.....	กรรมการและเลขานุการ
(ผศ.ดร.สุรพล แสนสุข)	(อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม)
.....	กรรมการ
(อาจารย์ ดร.สุธิรา มณีฉาย)	(อาจารย์บัณฑิตศึกษาประจำคณะ)
.....	กรรมการ
(ผศ.ดร.หนูเดือน เมืองแสน)	(ผู้ทรงคุณวุฒิ)

มหาวิทยาลัยอนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา ของมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

.....	.....
(ศ.ดร.วิเชียร มากคุ้น)	(ศ.ดร.ประดิษฐ์ เทอดทูล)
คณบดีคณะวิทยาศาสตร์	คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
	วันที่ 12 เดือน ธ.ค. พ.ศ. 2557

Mahasarakham University

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างสูงยิ่งจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะพร แสนสุข ประธานกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรพล แสนสุข กรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำแนวทางในการศึกษาและการวิจัย ตลอดจนตรวจแก้ไขข้อบกพร่องด้วยความเอาใจใส่ด้วยดีตลอดมา ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อภิเดช แสงดี ประธานกรรมการสอบ อาจารย์ ดร.สุธิรา มณีฉาย กรรมการสอบ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและแก้ไขข้อบกพร่อง และขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.หนูเดือน เมืองแสน ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่ให้ข้อเสนอแนะและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ และบุคลากร ภาควิชาชีววิทยาทุกท่าน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ที่ใช้ในการทำงานวิจัย

ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา ญาติพี่น้อง และผู้มีพระคุณที่มิได้เอ่ยนามทุกท่าน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ เป็นกำลังใจ ส่งเสริม และสนับสนุนด้านการศึกษา

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ นิสิตทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือ และให้คำปรึกษารวมทั้งกำลังใจในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ คุณเนตรชนก ทังสุพานิช ที่ให้ทุนการศึกษา

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยสำหรับนิสิตบัณฑิตศึกษางบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2557 มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ภัทราพร พิมพ์หมื่น

Mahasarakham University

ชื่อเรื่อง การขยายพันธุ์กระทือ (*Globba marantina* L.) และกระทือลิง (*G. schomburgkii* Hook. F) ในหลอดทดลอง
ผู้วิจัย นางสาวภัทราพร พิมพ์หมื่น
ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต **สาขาวิชา** ชีววิทยา
กรรมการควบคุม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะพร แสนสุข
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรพล แสนสุข
มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหาสารคาม **ปีที่พิมพ์** 2557

บทคัดย่อ

เพาะเลี้ยงหน่อย่อยของกระทือและกระทือลิงที่ผ่าครึ่งตามยาวและไม่ผ่าครึ่งตามยาวบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) (1962) ที่เติม benzyladenine (BA) 3 มก/ล ร่วมกับ naphthaleneacetic acid (NAA) 0.5 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าหน่อย่อยของทั้งกระทือและกระทือลิงที่ผ่าครึ่งตามยาว มีการเกิดต้นใหม่ดีกว่าหน่อย่อยที่ไม่ผ่าครึ่งตามยาว การชักนำให้เกิดแคลลัสการเกิดต้นและราก เมื่อนำต้นอ่อนขนาด 1 ซม. มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม thidiazuron (TDZ) หรือ NAA ร่วมกับ BA ความเข้มข้นต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ BA มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากที่สุด 40% ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ เกิดยอดดีที่สุด ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ BA มีจำนวนรากมากที่สุด เพาะเลี้ยงโคนต้นกระทือและกระทือลิงที่ผ่าครึ่งตามยาวและไม่ผ่าครึ่งตามยาวบนอาหารแข็งและอาหารเหลวสูตร MS พบว่าโคนต้นกระทือที่ไม่ผ่าครึ่งตามยาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลว มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 14.10 ยอด/ชิ้นส่วนพืช โคนต้นกระทือลิงที่ไม่ผ่าครึ่งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง เกิดยอดได้ดีกว่าโคนต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว เมื่อย้ายต้นอ่อนกระทือและกระทือลิงออกปลูกในวัสดุปลูกที่ต่างกันในเรือนเพาะชำ พบว่าต้นกระทือที่ปลูกในดินปลูก:ทรายและทราย:แกลบเผา มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 100% ต้นกระทือลิงที่ปลูกในทราย มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 80%

คำสำคัญ : กระทือ, กระทือลิง, การขยายพันธุ์, หน่อย่อย

Mahasarakham University

TITLE *In Vitro* Propagation of *Globba marantina* L. and *G. schomburgkii* Hook. F
AUTHOR Miss Phattaraporn Pimmuen
DEGREE Master Degree of Science **MAJOR** Biology
ADVISORS Asst. Prof. Piyaporn Saensouk, Ph.D.
Asst. Prof. Surapon Saensouk, Ph.D.
UNIVERSITY Mahasarakham University **DATE** 2014

ABSTRACT

The long divided and undivided bubils of *Globba marantina* L. and *G. schomburgkii* Hook. F were cultured on Murashige and Skoog (MS) (1962) medium supplemented with 3 mg/l benzyladenine (BA) and 0.5 mg/l naphthaleneacetic acid (NAA) for 8 weeks. The results indicated that the long divided bubils of both *G. marantina* L. and *G. schomburgkii* Hook. F showed a greater amount of plant regeneration than the undivided bulbils. Callus induction as well as shoot and root formation were observed when culturing microshoots 1 cm in length on MS medium with various concentrations of Thidiazuron (TDZ) or NAA plus BA for 8 weeks. The highest percentage of callus induction was 40% when culturing the microshoots on MS medium supplemented with NAA and BA. The best result for shoot formation was achieved when culturing the microshoots on MS medium with TDZ added. The highest number of root was obtained when culturing the microshoots on MS medium with NAA and BA added. The long divided and undivided shoot bases of *G. marantina* L. and *G. schomburgkii* Hook. F. were cultured on solid and liquid MS medium. The undivided shoot base of *G. marantina* L. when cultured on liquid MS medium showed an average number of shoots that was 14.10 shoots/explant. For *G. schomburgkii* Hook. F, when the undivided shoot bases were cultured on solid MS medium, a greater number of shoots were produced than when cultured on liquid medium.The *in vitro*-derived plantlets of *G. marantina* L. and *G. schomburgkii* Hook. F. were transplanted to pots containing different types of potting mixture in a greenhouse. The survival rates were 100% when *G. marantina* L. was transplanted to sand with soil and sand with burned rice husk. For *G. schomburgkii* Hook. F, when transplanted to sand only, the survival rate was 80%.

Key Words : *Globba marantina* L., *G. schomburgkii* Hook. F., micropropagation, bulbils

Mahasarakham University

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพประกอบ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการทดลอง	2
1.3 ขอบเขตของการทดลอง	2
1.4 สถานที่ทำการศึกษาทดลอง	2
1.5 ระยะเวลาทำการทดลอง	3
1.6 ประโยชน์คาดว่าจะได้รับจากการทดลอง	3
บทที่ 2 ปริทัศน์เอกสารข้อมูล	4
2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์	4
2.2 ประโยชน์ของพืชสกุลหงส์เหิน	6
2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	6
2.4 ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	8
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	9
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง	14
3.1 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	14
3.2 วิธีดำเนินการทดลอง	15
3.3 การวางแผนการทดลอง	16
บทที่ 4 ผลการวิจัย	17
4.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระทือ	17
4.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระทือลิง	30
บทที่ 5 สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	42
5.1 สรุปผล	42
5.2 อภิปรายผล	42
5.3 ข้อเสนอแนะ	46
เอกสารอ้างอิง	47
ประวัติย่อผู้วิจัย	52

Mahasarakham University

สารบัญตาราง

		หน้า
ตาราง 2.1	เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกระทือและกระทือลิง	5
ตาราง 4.1	เปรียบเทียบวิธีการเพาะเลี้ยงหน่อย่อยกระทือ เมื่อเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	17
ตาราง 4.2	ผลของฮอร์โมน TDZ ต่อการเกิดแคลลัส ยอดและรากของต้นอ่อนกระทือ เมื่อเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	19
ตาราง 4.3	ผลของชนิดอาหารต่อการเพาะเลี้ยงโคนต้นกระทือ	21
ตาราง 4.4	ผลของ NAA และ BA ต่อการเกิดแคลลัส ยอดและรากของต้นอ่อนกระทือ เมื่อเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	24
ตาราง 4.5	ผลของชนิดอาหารต่อการเพาะเลี้ยงโคนต้นกระทือ	26
ตาราง 4.6	การย้ายต้นอ่อนกระทือออกปลูกในสภาพธรรมชาติ 8 สัปดาห์	28
ตาราง 4.7	เปรียบเทียบวิธีการเพาะเลี้ยงหน่อย่อยกระทือลิง เมื่อเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	30
ตาราง 4.8	ผลของฮอร์โมน TDZ ต่อการเกิดแคลลัส ยอดและรากของต้นอ่อนกระทือลิง เมื่อเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	31
ตาราง 4.9	ผลของชนิดอาหารต่อการเพาะเลี้ยงโคนต้นกระทือลิง	33
ตาราง 4.10	ผลของ NAA และ BA ต่อการเกิดแคลลัส ยอดและรากของต้นอ่อนกระทือลิง เมื่อเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์	36
ตาราง 4.11	ผลของชนิดอาหารต่อการเพาะเลี้ยงโคนต้นกระทือลิง	38
ตาราง 4.12	การย้ายต้นอ่อนกระทือลิงออกปลูกในสภาพธรรมชาติ 8 สัปดาห์	40

Mahasarakham University

สารบัญภาพประกอบ

		หน้า
ภาพประกอบ 2.1	กระทือ (ก) ต้น (ข) ดอก (ค) หน่อย่อย	4
ภาพประกอบ 2.2	กระทือลิง (ก) ต้น (ข) ดอก (ค) หน่อย่อย	5
ภาพประกอบ 4.1	การเพาะเลี้ยงหน่อย่อยกระทือ	18
ภาพประกอบ 4.2	ลักษณะแคลลัส (ลูกศรชี้) ยอดและรากของกระทือเมื่อเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างกันเป็นเวลา 8 สัปดาห์	20
ภาพประกอบ 4.3	ลักษณะยอดและรากของต้นอ่อนกระทือ	22
ภาพประกอบ 4.4	ลักษณะแคลลัส ยอดและรากของต้นอ่อนกระทือเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA และ BA (ตามลำดับ) เป็นเวลา 8 สัปดาห์	25
ภาพประกอบ 4.5	ลักษณะยอดและรากของต้นอ่อนกระทือ	27
ภาพประกอบ 4.6	ลักษณะต้นกระทือที่นำออกปลูกในวัสดุปลูกต่างกันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	29
ภาพประกอบ 4.7	การเพาะเลี้ยงหน่อย่อยกระทือลิง	30
ภาพประกอบ 4.8	ลักษณะแคลลัส (ลูกศรชี้) ยอดและรากของกระทือลิง เมื่อเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างกันเป็นเวลา 8 สัปดาห์	32
ภาพประกอบ 4.9	ลักษณะยอดและรากของต้นอ่อนกระทือ	34
ภาพประกอบ 4.10	ลักษณะแคลลัส ยอดและรากของต้นอ่อนกระทือลิงเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA และ BA (ตามลำดับ) เป็นเวลา 8 สัปดาห์	37
ภาพประกอบ 4.11	ลักษณะยอดและรากของต้นอ่อนกระทือลิง	39
ภาพประกอบ 4.12	ลักษณะต้นกระทือลิงเมื่อนำออกปลูกเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์	41

Mahasarakham University

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ประเทศไทยเป็นแหล่งผลิตพืชวงศ์ขิงเป็นอันดับ 1 ใน 3 ของโลก ตลาดหลักที่สำคัญคือ ญี่ปุ่น และอเมริกา การส่งออกพืชวงศ์ขิง เช่น ปทุมมาซึ่งเป็นไม้ดอกชนิดใหม่ที่มีศักยภาพการส่งออกเป็นอันดับ 2 รองจากกล้วยไม้ ปัจจุบันมีการส่งออกประมาณ 30 ล้านบาท เนื่องจากตลาดส่งออกถือเป็นตลาดที่มีกำลังซื้อสูงและมีคุณภาพ เช่น ญี่ปุ่น เนเธอร์แลนด์ โปรตุเกส อิสราเอล และเริ่มขยายตลาดส่งออกไปยังสหรัฐอเมริกา แอฟริกา จีน และไต้หวัน พืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae หรือ Ginger Family) เป็นพรรณไม้ที่พบมากในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อนทั่วโลก พบมากในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ปัจจุบันทั่วโลกพบประมาณ 53 สกุล 1,300 ชนิด โดยในประเทศไทยพบประมาณ 26 สกุล 300 ชนิด (Larsen and Larsen, 2006) เป็นไม้ล้มลุกอายุหลายปี มีลำต้นใต้ดินแบบเหง้า พบน้อยชนิดที่เป็นพืชอิงอาศัย มีกลิ่นซึ่งเกิดจากต่อมน้ำมันหอมระเหยอยู่ในทุกส่วนของพืชโดยเฉพาะที่เหง้า คนสมัยโบราณยังเชื่อว่าพืชวงศ์ขิงเป็นไม้สิริมงคลจึงนิยมนำมาปลูกไว้ประจำบ้าน นำไปประกอบอาหาร รวมทั้งเป็นพืชสมุนไพรและเครื่องเทศที่สำคัญ เช่น สกุลข่า (*Alpinia),* สกุลกระชาย (*Boesenbergia*), สกุลขมิ้น *(Curcuma),* สกุลมหาหงส์ (*Hedychium*), สกุลเปราะ (*Kaempferia*), สกุลว่านเพชรน้อย (*Stahlianthus*) และสกุลขิง (*Zingiber)* นอกจากนี้บางชนิดยังนำมาสกัดน้ำทำมันหอมระเหยเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมน้ำหอม เช่น สกุลกระวาน (*Amomum*) บางชนิดมีช่อดอกสวยงามใช้เป็นไม้ประดับ ไม้ตัดดอกและไม้ส่งออกต่างประเทศ เช่น สกุลกระชาย สกุลขมิ้น สกุลหงส์เหิน สกุลเปราะ สกุลว่านเพชรน้อย และสกุลขิง เป็นต้น ในแถบประเทศเอเชียนิยมนำพืชวงศ์ขิงเป็นจำนวนไม่น้อยมาใช้ทางด้านเภสัชตำหรับประกอบเป็นยารักษาโรค สำหรับในประเทศไทยพบว่าได้มีการบันทึกไว้เป็น ความรู้พื้นบ้านที่ได้นำมาใช้เป็นยา (ethnomedicinal) จำนวน 11 สกุล เช่น *Alpinia*, *Amomum*, *Boesenbergia*, *Curcuma*, *Etlingera*, *Elletariopsis*, *Gagnepainia*, *Globba*, *Hedychium*, *Kaempferia* และ *Zingiber* โดยนำมาใช้รักษาโรคเกี่ยวกับกระเพาะอาหาร เช่น ปวดท้องเนื่องจากเกิด แผลในกระเพาะอาหาร และใช้เป็นยาขับลมหรือยาระบาย พืชที่ได้กล่าวมาทั้งหมดส่วนใหญ่ใช้เป็นส่วนประกอบทางเคมีที่สำคัญของตัวยาและใช้กันอย่างแพร่หลาย ในด้านเภสัชกรรม จึงนับได้ว่าพืชวงศ์ขิงเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญต่อชีวิตความเป็นอยู่ของมนุษย์มาเป็นเวลานาน (วงศ์สถิต ฉั่วกุล และคณะ, 2546)

กระทือ (*Globba marantina* L.) และกระทือลิง (*G. schomburgkii* Hook. F) เป็นพืชในวงศ์ขิงสกุลมหาหงส์ พบทั่วโลก 89 ชนิด ในประเทศไทยมีรายงานพบ 42 ชนิด (Larsen and Larsen, 2006)เป็นพืชเฉพาะถิ่น เป็นไม้ประดับและไม้ตัดดอก เนื่องจากมีดอกที่มีสีสันสวยงาม คล้ายนางพญาหงส์ จึงเป็นที่นิยมนำมาประดับตกแต่งตามบ้านเรือน สำนักงานหรือสวนสาธารณะ พืชในสกุลนี้บางชนิดใช้เป็นสมุนไพร เช่น *G. candida* Ridl. เหง้าและใบ มีสรรพคุณแก้หูน้ำหนวก (Chuakul., 2005) เนื่องจากพืชวงศ์ขิงนิยมขยายพันธุ์โดยใช้เหง้า ในบางสกุลสามารถใช้เมล็ดในการขยายพันธุ์ได้ด้วย ส่วนพืชสกุลหงส์เหินนิยมขยายพันธุ์ใช้เหง้า แยกหน่อและหน่อย่อย (bulbils) ส่วนมากนิยมขยายพันธุ์พืชวงศ์ขิงในฤดูฝน เพราะฤดูหนาวพืชวงศ์ขิงจะมีการพักการเจริญเติบโต และการใช้เหง้าในการปลูกจะทำ

Mahasarakham University

ให้ได้จำนวนเหง้าต่อต้นต่อปีค่อนข้างน้อย นอกจากนี้การใช้เหง้าในการเพาะปลูกยังเกิดโรคเน่าของเหง้า ทำให้จำนวนต้นไม่เพียงพอต่อการนำไปใช้ประโยชน์ ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงได้นำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาช่วยในการขยายพันธุ์พืชสกุลหงส์เหิน เนื่องจากการขยายพันธุ์พืชด้วยเทคนิคนี้สามารถขยายพันธุ์พืชได้จำนวนมาก ไม่ขึ้นอยู่กับฤดูกาล และได้พืชต้นใหม่ที่ปราศจากโรค รวมทั้งเป็นการอนุรักษ์พันธุกรรมของพืชวงศ์ขิงอย่างยั่งยืนต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการทดลอง

1.2.1 เพื่อศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงหน่อยย่อยกระทือและกระทือลิง

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของฮอร์โมน TDZ ที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกระทือและกระทือลิง

1.2.3 เพื่อศึกษาผลของชนิดอาหารและวิธีการเพาะเลี้ยงโคนต้นกระทือและกระทือลิง

1.2.4 ศึกษาผลของฮอร์โมน NAA ร่วมกับ BA ที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกระทือและกระทือลิง

1.2.5 เพื่อศึกษาวัสดุปลูกที่เหมาะสมเมื่อย้ายต้นอ่อนกระทือและกระทือลิงออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

1.3 ขอบเขตของการทดลอง

ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงหน่อย่อยกระทือและกระทือลิงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ร่วมกับ NAA ศึกษาผลของฮอร์โมน TDZ และผลของฮอร์โมน NAA ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกระทือและกระทือลิง ศึกษาผลของชนิดอาหารและวิธีการเพาะเลี้ยงโคนต้นกระทือและกระทือลิง นอกจากนี้ยังศึกษาวัสดุปลูกที่เหมาะสม เมื่อทำการย้ายต้นอ่อนกระทือและกระทือลิงออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

1.4 สถานที่ทำการศึกษาทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (SC1-306) ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม

Mahasarakham University

1.5 ระยะเวลาทำการทดลอง

กิจกรรม	ปี 2555		ปี 2556				ปี 2557			
	กค.-กย.	ตค.-ธค.	มค.-มีค.	เมย.-มิย.	กค.-กย.	ตค.-ธค.	มค.-มีค.	เมย.-มิย.	กค.-กย.	ตค.-ธค.
1. ศึกษาข้อมูลรวบรวมเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	←	—	—	—	—	—	—	—	—	
2. วางแผนการทดลอง		←	—							
3. ขยายพันธุ์ต้นอ่อน				←	—	—	—			
4. ทำการทดลอง						←	—	—	—	
5. สรุปผลการทดลอง							←	—	—	
6. เตรียมต้นฉบับตีพิมพ์								←	—	
7. นำเสนอวิทยานิพนธ์									←	
8. จัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับสมบูรณ์										←

1.6 ประโยชน์คาดว่าจะได้รับจากการทดลอง

1.6.1 ทราบวิธีการเพาะเลี้ยงหน่อย่อยกระทือและกระทือลิง

1.6.2 ทราบความเข้มข้นของฮอร์โมน TDZ ที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกระทือและกระทือลิง

1.6.3 ทราบชนิดอาหารและวิธีการเพาะเลี้ยงโคนต้นที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงกระทือและกระทือลิง

1.6.4 ทราบความเข้มข้นของฮอร์โมน BA ร่วมกับ NAA ที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกระทือและกระทือลิง

1.6.5 ทราบชนิดวัสดุปลูกที่เหมาะสมเมื่อย้ายต้นอ่อนกระทือและกระทือลิงออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

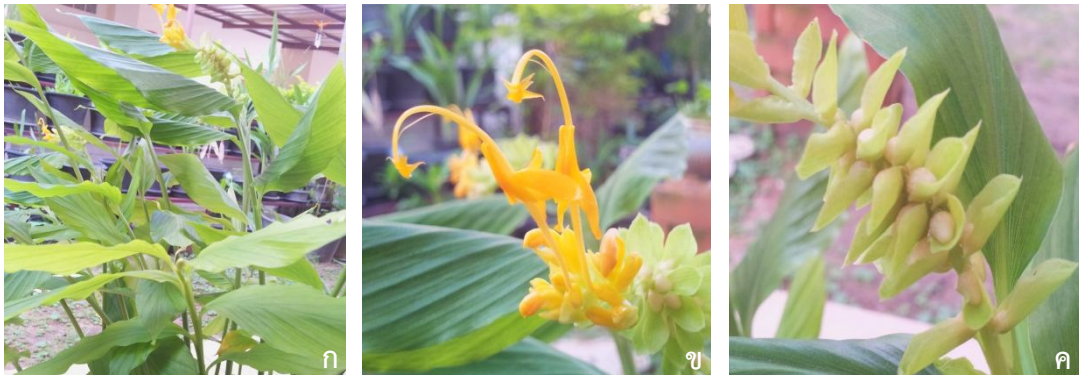
Mahasarakham University

บทที่ 2

ปริทัศน์เอกสารข้อมูล

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

2.1.1 *Globba marantina* L. ชื่อสามัญเรียกว่ากระทือเป็นพืชในวงศ์ขิง (Zingiberaceae) เป็นไม้ล้มลุก อายุหลายปี ลำต้นเทียมสูง 50-60 ซม. ลำต้นใต้ดินเป็นเหง้า มีรากสะสมอาหารลักษณะอวบน้ำ เรียงอยู่โดยรอบหัว หัวหลักรูปไข่แคบมีรากเป็นพวงคล้ายกระชาย ใบเดี่ยว เรียงสลับระนาบเดียว รูปรีแกมรูปหอก โคนใบสอบ ปลายใบแหลม ถึงเรียวแหลม เห็นเส้นใบชัดเจน ก้านใบแผ่เป็นกาบสีเขียว โคนกาบใบมีสีแดง ขนาดของใบกว้างประมาณ 10 ซม. ยาวประมาณ 25 ซม. ช่อดอกออกที่ปลายยอดซึ่งแทงออกมาจากยอดของลำต้นเทียม ช่อจะโค้งและห้อยตัวลงอย่างสวยงาม (ตาราง 2.1) ใบประดับสีเขียว มีดอกย่อยจำนวนมาก ดอกบานยาวประมาณ 2.5 ซม. มีก้านเกสรเพศผู้ยื่นยาวออกจากดอก เมื่อช่อดอกสมบูรณ์สามารถสร้างหน่อย่อย (bulbil) รูปรี มีสีครีมเมื่อยังอ่อนอยู่ แก่แล้วมีสีเทาอยู่ตามซอกใบประดับดอกย่อยได้ (ภาพประกอบ 2.1) (สุรพล แสนสุข, 2543)



ภาพประกอบ 2.1 กระทือ (ก) ต้น (ข) ดอก (ค) หน่อย่อย

2.1.2 *G. schomburgkii* Hook. F ชื่อสามัญเรียกว่ากระทือลิง กล้วยผี กระชายผี กระชายลิง (ภาคกลาง) ขมิ้นผี (สระบุรี) การขยายพันธุ์ทำได้โดยการแยกเหง้า แยกหน่อ นำหัวย่อยมาปลูกเป็นไม้ล้มลุก มีเหง้าใต้ดินขนาดเล็ก ลำต้นสูงประมาณ 60 - 80 ซม. ใบเดี่ยวเรียงสลับ รูปใบหอกแกมรูปขอบขนาน ยาว 15-20 ซม. ใบที่โคนต้นรูปไข่ ขนาดเล็กกว่าใบใกล้ยอด ปลายใบแหลมยาว โคนใบรูปเรียวแคบ แผ่นใบมีขนสั้น นุ่มด้านล่าง ก้านใบสั้น ยาวประมาณ 0.5 ซม. ลิ้นใบขนาดเล็ก ช่อดอกแบบช่อกระจะ แยกแขนงสั้น ออกที่ยอด ห้อยโค้งลงเล็กน้อย (ตาราง 2.1) ใบประดับช่วงโคนช่อติดทน รูปไข่ยาวประมาณ 1 ซม. ปลายแหลม มีหน่อย่อย ทรงกลมสีขาว (ภาพประกอบ 2.1) ใบประดับช่วงปลายช่อขนาดเล็ก รูปไข่ ยาวประมาณ 0.6 ซม. แต่ละช่อแขนงมี 4-5 ดอก เรียง 2 แถว ใบประดับย่อยขนาดเล็กกว่า รูปรี ยาว 0.3-0.6 ซม. สีส้ม เปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อน ก้านดอกสั้นๆ ดอกสีส้ม กลีบเลี้ยงยาว 0.4-0.6 ซม. ปลายตัด แยกเป็น 3 แฉก เว้าตื้น หลอดกลีบดอกยาวประมาณ 1.5 ซม. โค้ง กลีบดอกยาว

Mahasarakham University

เท่าๆ กัน ยาวประมาณ 0.4 ซม. เกสรเพศผู้ที่เป็นหมันติดบนหลอดกลีบดอก รูปขอบขนาน ยาวประมาณ 1.2 ซม. กลีบปากติดเหนือเกสรเพศผู้ที่เป็นหมัน ประมาณ 1 ซม. รูปสามเหลี่ยมกางออกสองข้าง ปลายแหลม เกสรเพศผู้ 1 อัน ก้านเกสรโค้งลง ยาวประมาณ 2.5 ซม. หุ้มก้านเกสรเพศเมีย ปลายเกสรเพศผู้แผ่รูปดาวข้างละ 2 แฉก รังไข่ยาวประมาณ 0.2 ซม. ผิวย่น ก้านเกสรเพศเมียรูปเส้นด้าย ยอดเกสรรูปถ้วย ยื่นพ้นอับเรณูเล็กน้อย ผลทรงกลม มี 3 พู ผิวขรุขระ ยาวประมาณ 0.6 ซม. ส่วนมากมักไม่ติดผล มีเขตการกระจายพันธุ์กว้าง พบตั้งแต่อินเดีย พม่า ภูมิภาคอินโดจีน และคาบสมุทรมลายู ขึ้นใต้ร่มเงาในป่าเบญจพรรณและป่าดิบเขา ระดับความสูงจากน้ำทะเลประมาณ 1,000 เมตร (ณรงค์ศักดิ์ ค้านอธรรม, 2554)

ภาพประกอบ 2.2 กระทือลิง (ก) ต้น (ข) ดอก (ค) หน่อย่อย

ตาราง 2.1 เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างกระทือและกระทือลิง

ลักษณะพืช	กระทือ	กระทือลิง
ขนาดลำต้น	30-40 ซม.	60 ซม.
สีโคนใบ	สีแดง	สีเขียว
ช่อดอก	โค้งขึ้นและห้อยลง	ห้อยลงและโค้งขึ้น
หน่อย่อย	รูปรี สีครีม	ทรงกลม สีขาว

ลักษณะเด่นของพืชสกุล *Globba* ที่แตกต่างจากพืชวงศ์ขิงสกุลอื่น

การเรียงตัวของใบไม่ชัดเจนว่าขนานหรือตั้งฉากกับไรโซม มีเกสรเพศผู้ที่เป็นหมัน 2 อัน ที่เปลี่ยนแปลงรูปร่างไปคล้ายกลีบดอก (lateral staminodes) เป็นแผ่นคล้ายกลีบดอก แยกเป็นอิสระจากกลีบปาก (lip) ก้านเกสรตัวผู้ (filament) ยืดยาว และโค้งคล้ายคันธนู รังไข่มีช่องเดียว พลาเซนตาตามแนวตะเข็บ (parietal placentation) (พวงเพ็ญ ศิริรักษ์, 2544)

Mahasarakham University

2.2 ประโยชน์ของพืชสกุลหงส์เหิน

สามารถนำทั้งต้น ต้มน้ำดื่ม แก้ไข้ ยอดอ่อนสามารถนำมารับประทานสด (วงศ์สถิต ฉั่วสกุล, 2548) เนื่องจากพืชสกุลหงส์เหินมีช่อดอกที่สวยงามจึงนำมาเป็นไม้ประดับเพื่อตกแต่งบ้านเรือน สำนักงานหรือสวนสาธารณะ เมื่อถึงเทศกาลเข้าพรรษาชาวบ้านนิยมนำดอกของพืชสกุลหงส์เหินมาจัดเรียงเป็นชั้นๆ คล้ายพานบายศรี และนำช่อดอกมาตักบาตรดอกไม้เพื่อถวายแด่พระภิกษุสงฆ์เนื่องในวันเทศกาลเข้าพรรษาด้วย นอกจากนี้ยังมีรายงานพบสารประกอบทางเคมีที่สำคัญในพืชกุลหงส์เหิน ดังนี้ Maulidiani *et al*. (2009) พบสาร Benzofurans และ Diterpenes เป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง ใน *Globba pendula* Roxb. Gopan *et al.* (2010) พบสาร B-caryophyllene และ Caryophyllene ใน *G. schomburgkii* Hook. F นอกจากนี้ยังพบสาร Zerumbone และ Caryophyllene oxide ใน *G. ophioglossa* Wight. ซึ่งมาใช้ทำน้ำมันหอมระเหย

2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเริ่มต้นในปี ค.ศ.1902 โดย Haberlandt นักวิทยาศาสตร์ชาวเยอรมัน ได้ทำการแยกเซลล์พืชมาเลี้ยงเพื่อศึกษาคุณสมบัติของเซลล์ แต่ยังไม่ประสบผลสำเร็จ เพียงแต่พบว่าเซลล์มีการขยายขนาดขึ้นเท่านั้น ในปี ค.ศ.1930 ได้มีการพัฒนาการเลี้ยงเซลล์ที่แยกมาจากรากของพืชหลายชนิดโดยเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ต่อมาในปี ค.ศ. 1938 สามารถเพาะเลี้ยงอวัยวะ (organ) และแคลลัส (callus) ของพืชได้หลายชนิดและนับตั้งแต่นั้นเป็นต้นมาเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้มีการพัฒนาไปได้อย่างกว้างขวาง และมีการค้นพบเทคนิคใหม่ๆ ซึ่งสามารถทำการเพาะเลี้ยงพืชเซลล์เดี่ยวๆ และโปรโตพลาสต์ของพืชได้หลายชนิดรวมทั้งการใช้เทคนิคทางเทคโนโลยีชีวภาพ เช่น การตัดต่อยีน การถ่ายยีน ฯลฯ เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงมีบทบาทสำคัญต่อวิทยาการหลายวิชา เช่น ชีวเคมี พันธุศาสตร์ การปรับปรุงพันธุ์พืช โรคพืช และเภสัชศาสตร์ เป็นต้น (คำนูณ กาญจนภูมิ, 2542)

สำหรับในประเทศไทยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้เริ่มขึ้นใน พ.ศ. 2484 โดยหลวงนิตย์ เวชวิศิษฐ์ ได้เพาะเลี้ยงกล้วยไม้ในอาหารสังเคราะห์สูตรของ Knudson (1922) ได้สำเร็จ ต่อมาศาสตราจารย์กิติคุณ ดร.ถาวร วัชราภัย จากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้เริ่มสร้างห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในประเทศไทยจนทำให้เกิดการเพาะลี้ยงกล้วยไม้ในเชิงการค้า ทำให้เกิดการพัฒนาเทคนิคทางด้านเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออย่างต่อเนื่อง สามารถขยายพันธุ์พืชหายาก ไม้ดอก ไม้ประดับ และพืชสมุนไพรได้อย่างมาก

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหมายถึงการนำเอาส่วนใดส่วนหนึ่งของพืชไม่ว่าจะเป็นอวัยวะ เนื้อเยื่อเซลล์ หรือเซลล์ที่ไม่มีผนัง ที่เรียกว่า โปรโตพลาสต์มาเลี้ยงในอาหารวิทยาศาสตร์ ซึ่งประกอบด้วยแร่ธาตุ น้ำตาล วิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโต ในสภาพปลอดเชื้อจุลินทรีย์ และอยู่ในสภาวะควบคุมสิ่งแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิ แสง และความชื้น ซึ่งชิ้นส่วนของพืชดังกล่าวจะมีการเจริญเติบโตและพัฒนาไปในรูปแบบต่างๆ เช่น เกิดเป็นยอด เกิดเป็นราก เกิดเป็นเอ็มบริโอ หรือเกิดเป็นกลุ่มเซลล์ที่เรียกว่า “แคลลัส” ที่สามารถชักนำให้เกิดเป็นพืชต้นใหม่ที่สมบูรณ์จำนวนมากได้

Mahasarakham University

2.3.1 ธาตุอาหารและอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

อาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีหลายชนิด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมต่อชนิดของพืช ตลอดจนชนิดและสภาพของชิ้นส่วนพืช (explants) ที่จะนำมาเลี้ยง อย่างไรก็ตามที่นิยมใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมากที่สุดคืออาหารที่ดัดแปลงมาจากอาหารที่ใช้ได้ดีในการเลี้ยงกลุ่มเซลล์หรือแคลลัส ซึ่งเป็นกลุ่มของเซลล์ที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงพัฒนา (differentiated) มีช่องว่างในเซลล์จำนวนมาก (highly vacuolated) และเซลล์ยังไม่มีการจัดรูปร่างที่แน่นอน (unorganized) ทั้งนี้เนื่องจากการเลี้ยงแคลลัส (callus culture) และเซลล์แขวนลอย (cell-suspension culture) ของพืชส่วนใหญ่เกือบทุกชนิดทำได้ง่ายกว่าการเลี้ยงจากส่วนอื่นๆ แคลลัสเหล่านี้ได้จากการเลี้ยงชิ้นส่วนพืชในอาหารกึ่งแข็ง (semi-solid medium) ที่อย่างน้อยที่สุดประกอบด้วยเกลือของธาตุอาหารที่ต้องการครบคือ สารประกอบอนินทรีย์ (inorganic substances) และสารประกอบอินทรีย์ (organic substances) ในปริมาณที่ค่อนข้างสูง

2.3.1.1 ธาตุอาหารพวกอนินทรีย์ (inorganic substances) ประกอบด้วย

ธาตุอาหารที่ต้องการในปริมาณมาก (macro-elements/nutrients) ได้แก่ คาร์บอน (Carbon, C) ไฮโดรเจน (Hydrogen, H) ออกซิเจน (Oxygen, O) ไนโตรเจน (Nitrogen, N) ฟอสฟอรัส (Phosphorus, P) โพแทสเซียม (Potassium, K) แคลเซียม (Calcium, Ca) แมกนีเซียม (Magnesium, Mg) และซัลเฟอร์ (Sulfur, S)

ธาตุอาหารที่ต้องการในปริมาณน้อย (micro-elements/nutrients) ได้แก่ เหล็ก (Iron, Fe) แมงกานีส (Manganese, Mn) ทองแดง (Copper, Cu) สังกะสี (Zinc, Zn) โบรอน (Boron, B) คลอรีน (Chlorine, Cl) และโมลิบดีนัม (Molybdenum, Mo)

เหล็ก สังกะสี และโบรอนเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์ คาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจนเป็นองค์ประกอบโครงสร้างหลักของพืช ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบหลักของกรดอะมิโน วิตามิน โปรตีน กรดนิวคลีอิค แคลเซียมเป็นองค์ประกอบหลักของผนังเซลล์ และแมกนีเซียมเป็นส่วนประกอบของคลอโรฟิลล์

2.3.1.2 ธาตุอาหารพวกอินทรีย์ (organic substances) ประกอบด้วย

วิตามิน (vitamin) ที่ใช้กันมากได้แก่ thiamine, nicotinic acid, pyridoxine, inositol, biotin, panthothenic acid, folic acid, choline, riboflavin และ ascorbic acid

ฮอร์โมน และสารควบคุมการเจริญเติบโต (plant hormones และ plant growth regulators) ได้แก่

สารในกลุ่มออกซิน (auxins) เช่น

1) Indole-3-acetic acid (IAA)
2) Indole butyric acid (IBA)
3) Naphthaleneacetic acid (NAA)
4) 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)
5) 2,4,5-Trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T)

สารในกลุ่มไซโตนิน (cytokinins) เช่น

1) N6-Benzyladenine (BA)
2) Kinetin

Mahasarakham University

3_ Zeatin

4) N6-Isopentenyl adenine (2iP)

สารควบคุมการเจริญเติบโตอื่นๆ เช่น

1) Giberellic acid (GA3)

2) Paclobutrazol

3) Abscissic acid (ABA)

4) Daminozide

5) Picloram

2.3.1.3 สารที่เป็นแหล่งคาร์บอน (cabon sources) ได้แก่ สารประกอบพวกน้ำตาลต่างๆ เช่นกลูโครส (glucrose) ซูโครส (sucrose) ฟรุคโทส (fructose) แซคคาโรส (saccharose) และแมนนิทอล (mannitol)

2.3.1.4 กรดอะมิโน (amino acid) ได้แก่ กลูตามีน (glutamine), แอสพาราจีน (asparagines), อะดีนีน (adenine), ไกลซีน (glycine) และ เคซีน ไฮโดรไลเซต (casein hydrolysate)

2.3.1.5 สารประกอบอินทรีย์อื่นๆ ส่วนใหญ่ได้จากธรรมชาติ เช่น น้ำมะพร้าว (coconut water) สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) น้ำต้มมันฝรั่ง น้ำคั้นมะเขือเทศ (tomato juice) กล้วยหอมบด และมอลท์สกัด (malt extract) (รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ, 2541)

2.3.2 สูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

สูตร Nagata และ Takebe (1971)

สูตร Gamborg B-5 (1970)

สูตร Nisch และ Nisch (1969)

สูตร Eeuwens Y3 (1967)

สูตร Linsmaier และ Skoog (1965)

สูตร Miller (1963)

สูตร Murashige และ Skoog (1962)

สูตร Morel และ Martin (1955)

สูตร Heller (1953)

สูตร Vacin และ Went (1949)

2.4 ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

2.4.1 สามารถผลิตต้นพันธุ์พืชปริมาณมากในระยะเวลาอันรวดเร็ว เช่น หากพืชสามารถเพิ่มปริมาณได้ 3 เท่า ต่อการย้ายเนื้อเยื่อลงอาหารใหม่ทุกเดือน เดือนละ 1 ครั้ง เมื่อเวลาผ่านไป 6 เดือน จะสามารถผลิตต้นพันธุ์พืชได้ถึง 243 ต้น ซึ่งเป็นวิธีหนึ่งของการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

2.4.2 ต้นพืชที่ผลิตได้จะปลอดโรคโดยเฉพาะโรคที่มีสาเหตุจากเชื้อไวรัสมายโคพลาสมา ด้วยการตัดเนื้อเยื่อเจริญที่อยู่บริเวณปลายยอดของลำต้น

Mahasarakham University

2.4.3 ต้นพืชที่ผลิตได้จะมีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนต้นแม่ คือ มีลักษณะตรงตามพันธุ์ ด้วยการใช้เทคนิคของการเลี้ยงจากชิ้นตาพืชพัฒนาเป็นต้นโดยตรงหลีกเลี่ยงขั้นตอนการเกิดกลุ่มก้อนเซลล์ที่เรียกว่าแคลลัส

2.4.4 ต้นพืชที่ผลิตได้จะมีขนาดสม่ำเสมอ ผลผลิตที่ได้มีมาตรฐานและเก็บเกี่ยวได้คราวละมากๆ พร้อมกัน หรือในเวลาเดียวกัน

2.4.5 เพื่อการเก็บรักษาในหลอดทดลองเป็นการเก็บรวมรวบพันธุ์พืชได้เป็นอย่างดี ประหยัดเวลา แรงงาน ค่าใช้จ่าย ปลอดภัยจากภัยพิบัติธรรมชาติ เช่น ไฟไหม้ น้ำท่วม ดินถล่ม ซึ่งอาจทำให้พืชล้มตายหรือสูญหาย ส่วนการแลกเปลี่ยนพันธุ์พืชระหว่างประเทศ พกพาได้ง่าย สะดวก เพราะในขวดสะอาดและปลอดเชื้อจุลินทรีย์ สามารถนำไปแลกเปลี่ยนกับต่างประเทศได้ เช่น การมอบเชื้อพันธุ์กล้วย ในสภาพปลอดเชื้อขององค์กรกล้วยนานาชาติ INIBAP (International Network for the Improvement of Banana and Plantain) ให้กรมส่งเสริมการเกษตร เมื่อปี พ.ศ. 2542

2.4.6 เพื่อประโยชน์ด้านการสกัดสารจากต้นพืช นำมาใช้ประโยชน์หลากหลายด้าน มาใช้ในการผลิตยาที่สำคัญ เนื่องจากในสภาพธรรมชาติพืชชนิดนั้นสามารถผลิตสารที่นำไปทำยาได้ปริมาณน้อย หากนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะสร้างสารได้มาก เช่น ยาฆ่าแมลงยารักษาโรค เป็นต้น
(คำนูณ กาญจนภูมิ, 2542)

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุลหงส์เหิน (*Globba*)

ณัฐพงศ์ จันจุฬา (2554) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ และการเพิ่มปริมาณยอดของหงส์เหิน (*Globba winitii* C. H. Wright) ในอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ร่วมกับฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 และ 5 มก/ล พบว่า BA มีผลต่อการชักนำยอดของหงส์เหินแต่ละพันธุ์ แต่ในการขยายพันธุ์ควรเลือกใช้ BA ที่ระดับ 5 มก/ล และลดลงเป็น 1 มก/ล จากนั้นย้ายไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ปราศจากฮอร์โมน เพื่อลดการตกค้างของฮอร์โมนก่อนทำการย้ายปลูก

ธิดา ชยุติมันต์กุล และพิมพ์ใจ อาภาวัชรุตม์ (2554) ศึกษาผลของ 2,4-D ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนโคนต้นหงส์เหิน (*G. winitii* C. H. Wright) ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ คือ 0, 0.01, 0.05, 0.25 และ 1.25 มก/ล ในอาหารวุ้นสูตร MS พบว่าที่ความเข้มข้น 1.25 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด ภายใต้สภาพที่มีแสง 1,600 ลักซ์ โดยให้แสงนาน 16 ชั่วโมงต่อวัน แคลลัสที่ได้มีลักษณะร่วนแห้ง มีสีขาวอมเหลือง สามารถนำไปขยายต่อได้ เนื้อเยื่อที่เลี้ยงเมื่อนำมาศึกษาเนื้อเยื่อวิทยา พบว่าหลังจากการเพาะเลี้ยงนาน 2 สัปดาห์ เซลล์บริเวณใกล้ท่อลำเลียงเริ่มมีการแบ่งเซลล์ ซึ่งต่อมากลายเป็นก้อนเนื้อเยื่อเล็กๆ ที่หลุดออกจากเนื้อเยื่อที่เลี้ยงได้ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 หลังการเลี้ยง และก้อนเนื้อเยื่อเหล่านี้สามารถแบ่งเซลล์เกิดเป็นก้อนเนื้อเยื่อขนาดเล็กใหม่ได้ในสัปดาห์ที่ 4

นฤภร วสุนธราภิวัฒก์ และคณะ (2554) ศึกษาสูตรอาหารที่สามารถพัฒนาขนาดและความยาวของรากต้นเข้าพรรษาทางเงิน (*G. substrigosa* Hook. F.) โดยใช้อาหารวุ้นสูตร MS ที่มีน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 30-80 ก/ล นาน 3 เดือน และนำสูตรอาหารที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นที่ดีที่สุดมาศึกษาร่วมกับ NAA หรือ GA_3 ที่เข้มข้น 0-4 มก/ล เป็นเวลา 3 เดือน พบว่ารากที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครสเข้มข้น 40 มก/ล มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและความยาวรากเฉลี่ยสูงสุดประมาณ

Mahasarakham University

0.65 ซม.ต่อยอด และ 4 ซม.ต่อยอด นอกจากนี้พบว่ารากของต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มีน้ำตาล 40 มก/ล ร่วมกับ NAA เข้มข้น 4 มก/ล มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางรากและความยาวรากเฉลี่ยสูงสุดประมาณ 1.32 ซม.ต่อยอด และ 3.4 เซนติเมตรต่อยอด ทั้งนี้ GA_3 ในทุกความเข้มข้นยับยั้งการเจริญของรากในต้นเข้าพรรษาทางเงิน

Chanchula *et al*. (2013) เพาะเลี้ยงเมล็ดของ *G. winitii* C. H. Wright. โดยตัดส่วนของเปลือกหุ้มเมล็ดที่แตกต่างกัน เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 10 มก/ล NAA 1 มก/ล และ GA_3 10 มก/ล เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดอ่อน เมล็ดที่ตัดขอบเปลือกหุ้มเมล็ด และเมล็ดเปลือยมีอัตราการงอกสูงและเจริญเร็ว 98.03%, 22% และ 100% ตามลำดับ

Kho *et al*. (2010) ขยายพันธุ์ *G. brachyanthera* K. Schum. โดยใช้หน่อย่อยนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร B5 (Gamborg, 1970) ที่เติม BAP 1, 2 และ 3 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร B5 ที่เติม BAP 3 มก/ล เกิดจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนพืชมากที่สุด 6.6 ต้นต่อชิ้นส่วนพืช

Jala *et al*. (2013)) เพาะเลี้ยงเมล็ดอ่อนของพืชสกุลหงส์เหิน 6 สายพันธุ์ บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ที่ความเข้มข้นต่างกัน เพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์ พบว่าพืชสกุลหงส์เหิน 6 สายพันธุ์ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มก/ล เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 8.66 ยอด/ชิ้นส่วนพืช

การเพาะเลี้ยงพืชสกุลขมิ้น (*Curcuma*)

Nayak (2000) ศึกษาการเพาะเลี้ยงยอดของ *Curcuma aromatic* Salisb. บนสูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ร่วมกับ Kinetin เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ายอดของ *C. aromatic* Salisb. ที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 5 มก/ล เกิดยอด 3.3 ยอด/ชิ้นส่วนพืช มีความยาวยอด 4.4 ซม.

Prakash *et al*. (2004) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเหง้าของ *C. amada* Roxb. บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP ร่วมกับ NAA เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าเหง้าของ *C. amada* Roxb. ที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน BAP 4.44 ไมโคโมล ร่วมกับ NAA 1.08 ไมโคโมล เกิดยอด 16.4 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และเพาะเลี้ยงใบของ *C. amada* Roxb. บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ 11.25 ไมโคโมล สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส 80%

Hoang *et al*. (2005) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเหง้าของ *C. zedoaria* Roscoe. บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ร่วมกับ IBA และน้ำมะพร้าว เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าเหง้าของ *C. zedoaria* Roscoe ที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 3 มก/ล ร่วมกับ IBA 0.5 มก/ล และน้ำมะพร้าว 20% เกิดจำนวนยอดมากที่สุด 5.6 ยอด/ชิ้นส่วนพืช

Theanphong *et al*. (2010) ศึกษาการเพาะเลี้ยงยอด *C. aeruginosa* Roxb. บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA หรือ Kinetin ความเข้มข้น 1, 3, 5 และ 7 มก/ล BA 1, 3, 5 และ 7 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล และ Kinetin 1, 3, 5 และ 7 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่ายอด *C. aeruginosa* Roxb. ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 1.0 มก/ล และ NAA 0.5 มก/ล ชักนำให้เกิดราก 10 รากต่อชิ้นส่วนพืชและเกิดยอด 1.29 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ความยาวยอด 3.56 ซม.

Raihana *et al*. (2011) ศึกษาการเพาะเลี้ยงตาเหง้าของ *C. manga* Val. & Zijp. บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP, IAA และ NAA เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าตาเหง้า *C. mangga*

Mahasarakham University

Val. & Zijp ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมฮอร์โมน BAP 9 มก/ล เกิดต้นได้ 3.3 ต้นต่อชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงตาเหง้าในอาหารสูตรที่เติมฮอร์โมน NAA 1 มก/ล เกิดรากได้ 62.5 ราก และเมื่อเพาะตาเลี้ยงเหง้าบนอาหารที่เติมฮอร์โมน BAP 3 มก/ล ร่วมกับ NAA 1 มก/ล ทำให้เกิดต้นได้ 2.2 ต้นต่อชิ้นส่วนพืช

Zhang *et al*. (2011) ศึกษาเพาะเลี้ยงเหง้า *C. soloensis* Valeton. บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 8.0 ไมโครโมล ร่วมกับ NAA 0.5 ไมโครโมล เพื่อกระตุ้นให้เกิดยอด พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเหง้าของ *C. soloensis* Valeton. เป็นเวลา 4 สัปดาห์ มีความยาวของยอดเพิ่มขึ้น 11 ซม. เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม TDZ อย่างเดียวมีจำนวนยอดเฉลี่ย 18.7 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช และพบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่มี TDZ 2.5 ไมโครโมล BA 2.0 ไมโครโมล และ 2,4-D 1.2 ไมโครโมล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 91.1%

Chong *et al*. (2012) ศึกษาการผ่าแบ่งยอดของ *C. zedoaria* Roscoe. บนอาหารแข็งและอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 0.5 มก/ล ร่วมกับ IBA 0.5 มก/ล เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ายอดที่ไม่ผ่าครึ่งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวสูตร MS เกิดยอด 4.2 ยอด/ชิ้นส่วนพืช

Kou *et al*. (2013) ศึกษาการเพาะเลี้ยงละอองเรณูของ *C. attenuate* Wall. เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน 2,4-D 1.3.6 ไมโครโมล ร่วมกับ KT 2.3 ไมโครโมล เป็นเวลา 6 สัปดาห์ ชักนำให้เกิดแคลลัส 33.3% เมื่อย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 8.8 ไมโครโมล ร่วมกับ NAA 2.69 ไมโครโมล และ TDZ 1.4 ไมโครโมล ชักนำให้เกิดยอดสูงสุด 10.2 ยอด/ชิ้นส่วนพืช เมื่อย้ายต้นอ่อนออกปลูกในธรรมชาติมีอัตราการรอดชีวิต 95%

Rahayu *et al*. (2012) ศึกษาการเพาะเลี้ยงยอดของ *C. xanthorrhiza* Roxb. บนสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ร่วมกับ TDZ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ายอดของ *C. xanthorrhiza* Roxb ที่เพาะเลี้ยงบนสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 5 มก/ล เกิดจำนวนยอดมากที่สุด 2 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอด 2.10 ซม. จำนวนรากมากที่สุด 2.75 ราก/ชิ้นส่วนพืช ความยาวราก 1.46 ซม. และมีจำนวนใบมากที่สุด 1.75 ใบ

การเพาะเลี้ยงพืชสกุลขิง (*Zingiber*)

Hamirah *et al*. (2010) ศึกษาการเพาะเลี้ยงตาเหง้าของ *Zingiber montanum* Koenig.บนอาหารสูตร B5 ที่เติมฮอร์โมน TDZ, BAP และ 2iP-R เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงตาเหง้าบนอาหารสูตร B5 ที่เติมฮอร์โมน TDZ 0.5 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด 8.1 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช

Abbas *et al*. (2011) ได้ทำการขยายพันธุ์เหง้า *Z. officinale* Rosc. บนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 4.5 มก/ล พบว่าเกิดต้นใหม่ได้ 8 ต้นต่อชิ้นส่วนพืช และเมื่อนำเหง้ามาเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม NAA 1 มก/ล รากจะเจริญเติบโตได้ 13.67 ราก มีความยาวราก 6.37 ซม. จากนั้นเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS, NN (Nitsch Nitsch), B5 และ Heller เต็มสูตรและครึ่งสูตรที่เติมฮอร์โมน NAA ความเข้มข้น 1 มก/ล เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ารากสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร B5 ครึ่งสูตร ที่เติมฮอร์โมน NAA 1 มก/ล

การเพาะเลี้ยงพืชสกุลดาหลา (*Etlingera*)

Abdelmageed *et al*. (2011) ศึกษาการเพาะเลี้ยงตาเหง้าของ *Etlingera elatior* Jack.บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนกลุ่มไซโตไคนิน (BAP) หรือฮอร์โมนกลุ่มออกซิน (IAA) เป็นเวลา

Mahasarakham University

8 สัปดาห์ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงตาเหง้าบนอาหารที่เติมฮอร์โมน BAP 22.2 ไมโครโมล มีจำนวนยอดมากที่สุด 3.67 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงตาเหง้าบนอาหารที่เติมฮอร์โมน BAP 26.6 ไมโครโมล มีความยาวยอดสูดสุด 4.20 ซม. และเมื่อเพาะเลี้ยงตาเหง้าบนอาหารที่เติมฮอร์โมน IAA 11.4 ไมโครโมล มีจำนวนรากมากที่สุด 3 รากต่อชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงตาเหง้าบนอาหารที่เติมฮอร์โมน BAP 34.2 ไมโครโมล มีความยาวราก 4 ซม. เมื่อนำต้นอ่อนมาย้ายปลูกในสภาพธรรมชาติ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 75%

Yunus *et al*. (2012) ศึกษาเพาะเลี้ยงเหง้า *E. elatior* Jack. บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าเหง้าที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 13.32 ไมโครโมล สามารถชักนำให้เกิดต้นเฉลี่ยมากที่สุด 95% และเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP, Kinetin และ r-r dimethylallylamino purine (2iP) ในความเข้มข้นต่างๆ พบว่าชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP 44.4 ไมโครโมล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดเฉลี่ย 93.75% ส่วนรากจะเจริญได้ดีบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมเจริญการเจริญเติบโต

การเพาะเลี้ยงพืชสกุลว่านเปราะทอง (*Cornukaempferia*)

Saensouk (2011) ศึกษาการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของว่านเปราะทอง (*Cornukaempferia aurantiflora* Gagnep.) เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน 2,4-D เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงใบอ่อนในอาหารสูตรที่เติมฮอร์โมน 2,4-D 2.0 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 95% และเมื่อเพาะเลี้ยงใบอ่อนบนอาหารที่เติมฮอร์โมน 2,4-D 0.1 มก/ล ร่วมกับ BA 5 มก/ล สามารถชักนำให้ต้นอ่อนเกิดยอดได้ 3.42 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช มีความยาวยอด 4.53 ซม.

การเพาะเลี้ยงพืชสกุลเปราะ (*Kaempferia*)

Swapna *et al*. (2003) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเหง้าและใบของ *Kaempferia galanga* L. บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน IAA ร่วมกับ BAP พบว่าเหง้าและใบของ *K. galanga* L. บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน IAA 0.5 มก/ล ร่วมกับ BAP 2.5 มก/ล เกิดยอดดีที่สุด 78% 61.6% ตามลำดับ

Chithra *et al*. (2004) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเหง้าของ *K. galanga* L. บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ร่วมกับ IBA และ ซิลเวอร์ไนเตรท เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเหง้าของ *K. galanga* บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 8.8 ไมโคโมล ร่วมกับ IBA 2.46 ไมโครโมล และซิลเวอร์ไนเตรท 11.7 ไมโคโมล เกิดยอด 8.3 ยอด/ชิ้นส่วนพืช มีจำนวนราก 6.7 ราก/ชิ้นส่วนพืช

Rahman *et al*. (2004) ศึกษาการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของ *K. galanga* L. เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน 2,4-D ร่วมกับ BA เป็นเวลา 7 สัปดาห์ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงใบอ่อนในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน 2,4-D 1.5 มก/ล ร่วมกับ BA 1 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงที่สุด 85% และย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 2 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.1 มก/ล แคลลัสพัฒนาไปเป็นเอ็มบริโอในระยะกลม 75% เมื่อต้นอ่อนเจริญเติบโตเต็มที่และแข็งแรงได้ย้ายออกปลูกในสภาพธรรมชาติมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 85%

Parida *et al*. (2010) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเหง้าของ *K. galanga* L. บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ร่วมกับ IBA เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเหง้าของ *K. galanga* บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 1 มก/ล ร่วมกับ IBA 0.5 มก/ล เกิดยอด 11.5 ยอด/ชิ้นส่วนพืช มีความยาวยอด 10.8 ซม. และเหง้าของ *K. galanga* บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 1 มก/ล มีจำนวนราก 5.5 ราก/ชิ้นส่วนพืช ความยาวราก 2.3 ซม.

Mahasarakham University

Kochuthressia *et al*. (2012) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเหง้าของ *K. galanga* L. บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ร่วมกับ Kinetin เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าเหง้าของ *K. galanga* L. บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 2 มก/ล ร่วมกับ Kinetin 1 มก/ล เกิดยอด 10.85 ยอด/ชิ้นส่วนพืช มีจำนวนราก 12.14 ราก/ชิ้นส่วนพืช และมีจำนวนใบ 5.21 ใบ เมื่อย้ายออกปลูกในธรรมชาติมีอัตราการรอดชีวิต 100%

Bhattacharya and Sen (2013) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเหง้าของ *K. galanga* L. บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP ร่วมกับ Kinetin เป็นเวลา 14 สัปดาห์ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเหง้าของ *K. galanga* บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP 3 มก/ล ร่วมกับ kinetin 4 มก/ล เกิดยอด 6.52 ยอด/ชิ้นส่วนพืช เหง้าที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP 2 มก/ล ร่วมกับ kinetin 3 มก/ล มีจำนวนราก 8.23 ราก/ชิ้นส่วนพืช

การเพาะเลี้ยงพืชสกุลกระชาย (*Boesenbergia*)

Yusuf *et al*. (2011) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเหง้าของ *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ร่วมกับ NAA เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าเหง้าของ *B. rotunda* (L.) Mansf. ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล ชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด 4.9 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และย้ายออกปลูกในสภาพธรรมชาติมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 85%

Mahasarakham University

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง

3.1 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ควรจัดให้อยู่ในบริเวณที่เหมาะสมและสะดวกในการใช้งาน

3.1.1 อุปกรณ์และเครื่องมือใช้ในการเตรียมอาหาร

3.1.1.1 ช้อนตักสารเคมี (spatula)

3.1.1.2 เครื่องชั่ง (balance)

3.1.1.3 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

3.1.1.4 เตาอบความร้อน (hot air oven)

3.1.1.5 หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave)

3.1.1.6 เตาอุ่นความร้อนและเครื่องคน (hot plate and magnetic stirrer)

3.1.1.7 ตู้เย็น (refrigerator)

3.1.1.8 ถุงพลาสติกทนความร้อน

3.1.1.9 อะลูมิเนียมฟลอยด์ (aluminium foil)

3.1.1.10 แท่งแม่เหล็ก (magnetic)

3.1.1.11 เครื่องแก้ว (glassware) ได้แก่ บีกเกอร์ (beaker) ขวดแก้ว (bottle) ขนาด 4 ออนซ์ และ 8 ออนซ์ ปิเปต (pipet) กระบอกตวง (cylinder) และขวดรูปชมพู่ (flask)

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือใช้ในการย้ายเนื้อเยื่อพืช

3.1.2.1 ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (laminar air-flow cabinet)

3.1.2.2 ตะเกียง (turnel)

3.1.2.3 จานแก้ว (petri dish)

3.1.2.4 มีดผ่าตัดแบบต่างๆ (knives and scalpels)

3.1.2.5 ปากคีบ (forceps)

3.1.2.6 ผ้าสะอาด (cloth sterilize)

3.1.2.7 ตะแกรงโลหะ (metal screen)

3.1.2.8 ไม้ขีดไฟ (matches)

3.1.2.9 กระดาษสะอาด (paper sterilize)

3.2.3 อุปกรณ์และเครื่องมือใช้ในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ

3.2.3.1 ชั้นเลี้ยงเนื้อเยื่อ

3.2.3.2 เครื่องควบคุมอุณหภูมิ (air conditioner)

3.2.3.3 เครื่องควบคุมเวลา (timer)

3.2.3.4 หลอดยูวีฆ่าเชื้อ (germicidal lamp)

3.2.3.5 หลอดฟลูออเรสเซนต์ (uv lamp)

Mahasarakham University

3.1.4 สารเคมี (chemical)

3.1.4.1 อาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) (ภาคผนวก)

3.1.4.2 แอลกอฮอล์ (alcohol) 70% และ 95%

3.1.4.3 Sodium hypoclorite (clorox)

3.1.4.4 น้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ (distilled water sterilize)

3.1.4.5 Tween 20

3.1.4.6 ผงวุ้น (agar)

3.1.4.7 1 N NaOH

3.1.4.8 1 N HCl

3.1.4.9 Benzyladenine (BA)

3.1.4.10 Naphthalene acetic acid (NAA)

3.2 วิธีดำเนินการทดลอง

อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อคือ อาหารสูตร MS ซึ่งประกอบด้วยธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง เหล็ก และวิตามินรวมกัน จากนั้นเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน แล้วเติมน้ำตาลซูโครส ปรับปริมาตรตามต้องการ นำไปปรับค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 5.7-5.8 ด้วย 1 N NaOH หรือ 1 N HCl และเติมวุ้น ต้มให้วุ้นละลายเมื่อวุ้นละลายหมดเทใส่ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 4 ออนซ์ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ปล่อยให้เย็น แล้วนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การทดลองที่ 1 ศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงหน่อย่อยของกระทือและกระทือลิง

นำหน่อย่อยที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาผ่าครึ่งตามยาวและไม่ผ่าครึ่งตามยาว เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล ทำการทดลอง 10 ซ้ำ นำไปวางบนชั้นภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมง/วัน ด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโต เปอร์เซ็นต์การเกิดต้นอ่อน จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของฮอร์โมน TDZ ในการเพาะเลี้ยงกระทือและกระทือลิง

เพาะเลี้ยงต้นอ่อนกระทือและกระทือลิงที่มีความยาวประมาณ 1 ซม. บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1 และ 2 มก/ล ทำการทดลองละ 10 ซ้ำ นำไปวางบนชั้นภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมง/วัน ด้วยหลอดไฟฟลูออร์เรสเซนต์ ที่ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ และบันทึกการเจริญเติบโต เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของชนิดอาหารและวิธีการผ่าโคนต้นกระทือและกระทือลิง

นำโคนต้นกระทือและกระทือลิงขนาด 1 ซม. ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ และเติมฮอร์โมน BA ร่วมกับ NAA ที่ชักนำให้เกิดยอดดีที่สุด มาผ่าครึ่งตามยาวและไม่ผ่าครึ่งตามยาว เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS และอาหารเหลวสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน

Mahasarakham University

เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ และบันทึกการเจริญเติบโต เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย

การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของฮอร์โมน NAA และ BA ต่อการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกระทือและกระทือลิง

เพาะเลี้ยงต้นอ่อนกระทือและกระทือลิงที่มีความยาวประมาณ 1 ซม. บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มก/ล ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3 และ 4 มก/ล ทำการทดลองละ 10 ซ้ำ นำไปวางบนชั้นภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมง/วัน ด้วยหลอดไฟฟลูออร์เรสเซนต์ ที่ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโต เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย

การทดลองที่ 5 ศึกษาวัสดุปลูกที่เหมาะสมเมื่อทำการย้ายต้นอ่อนกระทือและกระทือลิงออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

นำต้นอ่อนของกระทือและกระทือลิงที่มีต้นและรากสมบูรณ์ แข็งแรง มาปรับสภาพในห้องที่อุณหภูมิประมาน 30 องศาเซลเซียส นาน 2 สัปดาห์ จากนั้นทำการย้ายต้นอ่อนออกปลูกในวัสดุปลูก ได้แก่ ดินปลูก ทราย แกลบเผา ดินปลูก:ทราย ดินปลูก:แกลบเผา ทราย:แกลบเผา ดินปลูก:ทราย:แกลบเผา อัตราส่วน 1:1 นำไปปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโตและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต

3.3 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยตาราง ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี Duncan’s Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชั่น 11.5

Mahasarakham University

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระทือ

4.1.1 วิธีการเพาะเลี้ยงหน่อย่อยกระทือ

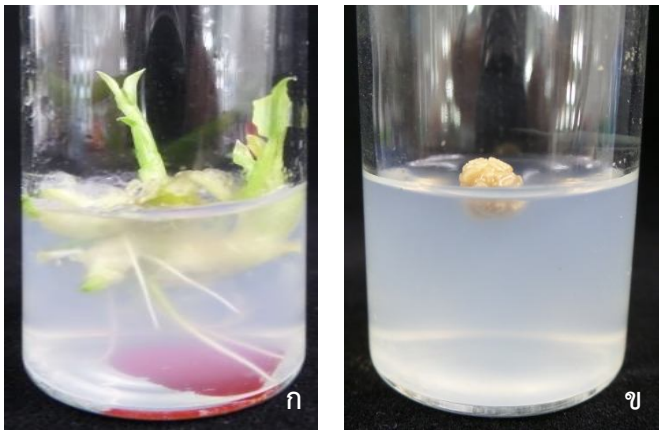
เมื่อนำหน่อย่อยที่ผ่าครึ่งตามยาวและไม่ผ่าครึ่งตามยาวที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าหน่อย่อยที่เพาะเลี้ยงเกิดรากสีขาวงอกออกทางด้านป้านของหน่อย่อยเจริญลงด้านล่าง ส่วนยอดเจริญขึ้นด้านบน บริเวณโคนต้นมีสีขาว เหนือโคนต้นมีสีเขียว เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ หน่อย่อยของกระทือที่ผ่าครึ่งตามยาวมีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นอ่อน 20% จำนวนยอดเฉลี่ย 3.5 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ย 1.2 ซม. จำนวนรากเฉลี่ย 4 ราก/ชิ้นส่วนพืช ความยาวรากเฉลี่ย 1.8 ซม. (ตาราง 4.1) ซึ่งแตกต่างจากหน่อย่อยที่ไม่ผ่าครึ่งตามยาวพบว่าไม่เกิดยอดและราก ลักษณะหน่อย่อยยังคงเหมือนเดิมไม่มีการเปลี่ยนแปลง (ภาพประกอบ 4.1)

ตาราง 4.1 เปรียบเทียบวิธีการเพาะเลี้ยงหน่อย่อยกระทือ เมื่อเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

วิธีการเพาะเลี้ยง	เปอร์เซ็นต์การเกิดต้นอ่อน	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
หน่อย่อยผ่าครึ่งตามยาว	20	3.5 ± 1.06^{a}	1.2 ± 0.56^{a}	4 ± 1.41^{a}	1.8 ± 0.14^{a}
หน่อย่อยไม่ผ่าครึ่งตามยาว	0	0^{b}	0^{b}	0^{b}	0^{b}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

Mahasarakham University



ภาพประกอบ 4.1 การเพาะเลี้ยงหน่อย่อยกระทือ
ก. หน่อย่อยกระทือที่ผ่าครึ่งตามยาวเจริญเป็นต้นอ่อน
ข. หน่อย่อยกระทือที่ไม่ผ่าครึ่งตามยาว

4.1.2 ผลของ TDZ ต่อการเกิดแคลลัส ยอดและรากกระทือ

เมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกระทือขนาด 1 ซม. บนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1 และ 2 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนกระทือที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.1, 0.25 และ 0.5 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 30%, 30% และ 20% ตามลำดับ เริ่มเกิดแคลลัสหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ แคลลัสมีสีขาว เป็นแคลลัสเกาะกันแบบหลวม (friable callus) และแคลลัสสามารถพัฒนาไปเป็นยอดและรากได้ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ต้นอ่อนกระทือที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 2 มก/ล มีจำนวนยอดมากที่สุด 7.10 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ยอดมีสีเขียว เจริญออกจากบริเวณโคนต้นอ่อน มีใบ 4-5 ใบ ใบที่อยู่บนสุดจะมีขนาดใหญ่กว่าใบอื่น ต้นอ่อนกระทือที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.1 มก/ล มีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 10.6 ราก/ชิ้นส่วนพืช รากมีขนาดเล็ก สีขาว มีขนรากจำนวนมาก ต้นอ่อนกระทือที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 4.81 ซม. และความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด 3.78 ซม. (ตาราง 4.2 และภาพประกอบ 4.2) จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าจำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

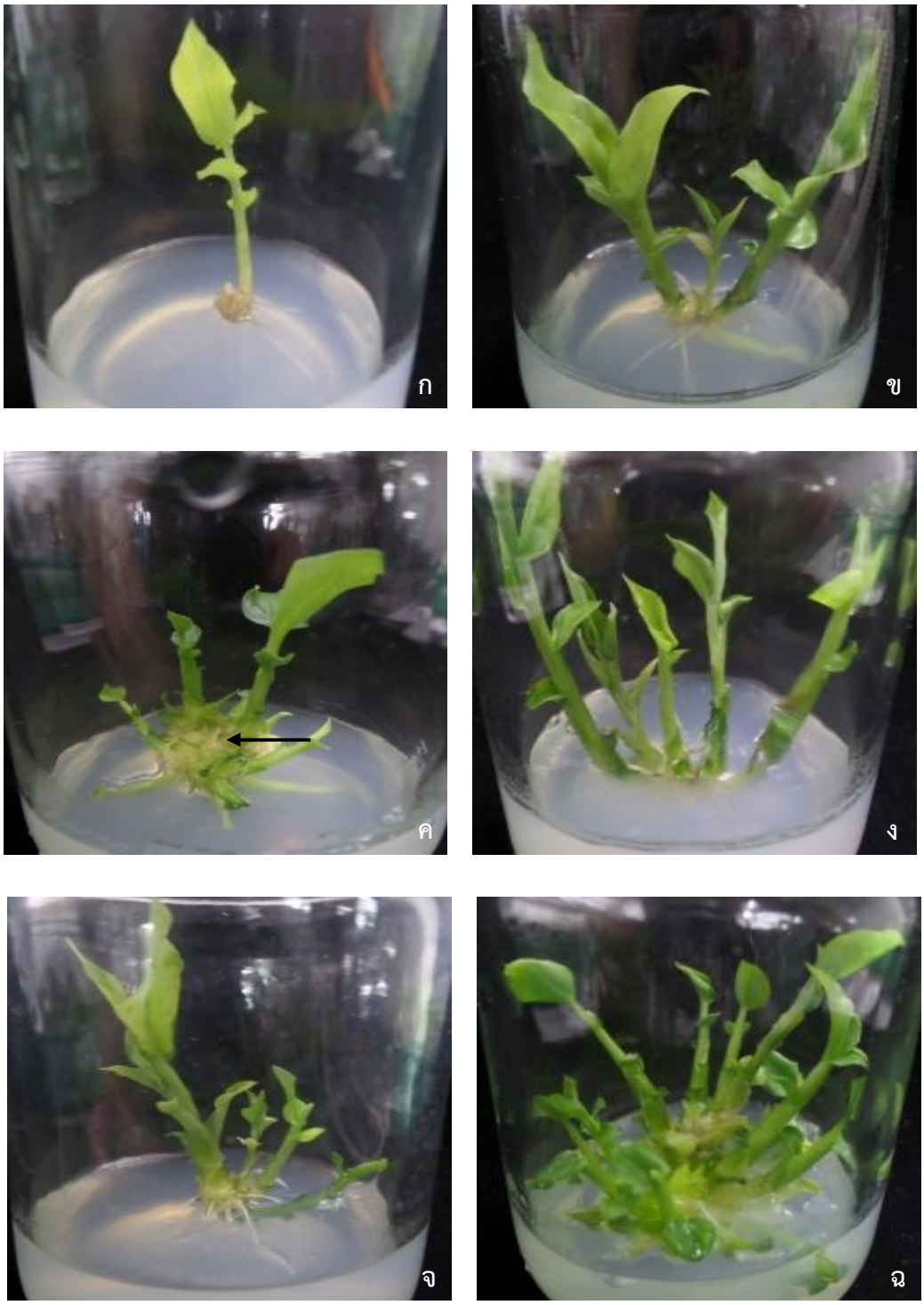
Mahasarakham University

ตาราง 4.2 ผลของฮอร์โมน TDZ ต่อการเกิดแคลลัส ยอดและรากของต้นอ่อนกระทือ เมื่อเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

TDZ (มก/ล)	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
0	0	1.10±0.10^{b}	4.81±0.53^{a}	5.90±1.00^{b}	3.78±0.77^{a}
0.1	30	5.40±1.98^{a}	2.60±0.21^{b}	10.60±2.50^{a}	1.07±0.16^{b}
0.25	30	5.30±1.57^{a}	2.25±0.18^{b}	4.90±1.26^{b}	0.71±0.15^{b}
0.5	20	6.60±0.74^{a}	2.24±0.15^{b}	3.00±0.93^{bc}	0.66±0.11^{b}
1	0	4.90±0.88^{a}	2.48±0.20^{b}	3.30±0.71^{bc}	0.37±0.09^{b}
2	0	7.10±1.12^{a}	1.95±0.21^{b}	0.20±0.20^{c}	0.45±0.45^{b}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

Mahasarakham University



ภาพประกอบ 4.2 ลักษณะแคลลัส (ลูกศรชี้) ยอดและรากของกระทือเมื่อเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์
ก. 0 มก/ล ข. 0.1 มก/ล ค. 0.25 มก/ล ง. 0.5 มก/ล จ. 1 มก/ล
ฉ. 2 มก/ล

Mahasarakham University

4.1.3 ผลของชนิดอาหารและวิธีการผ่าโคนต้นต่อการเพาะเลี้ยงโคนต้นกระทือ

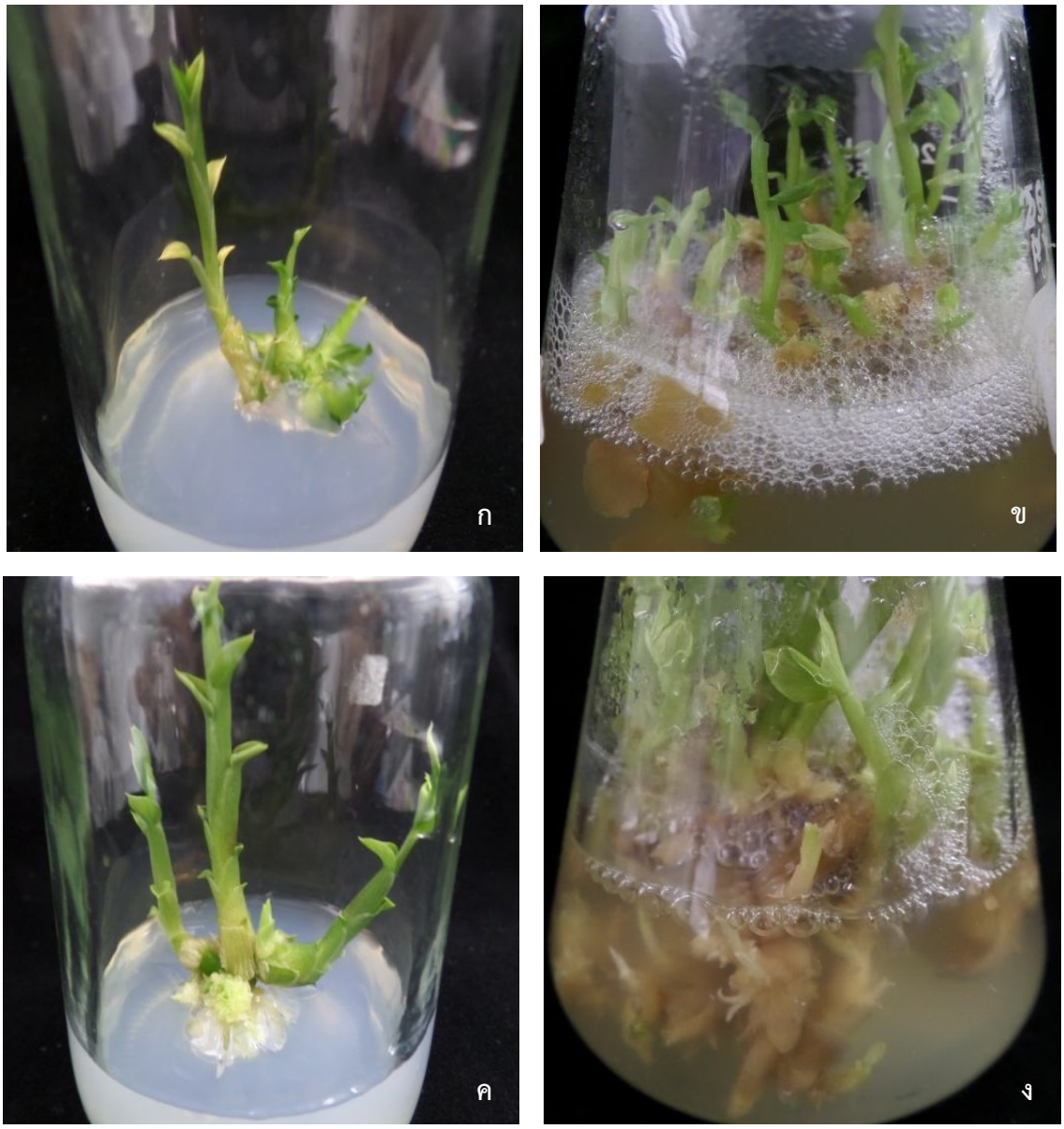
นำโคนต้นขนาด 1 ซม. ที่ได้จากการเพาเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ 2 มก/ล มาผ่าครึ่งตามยาวและไม่ผ่าครึ่งตามยาว เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งและอาหารเหลวสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าโคนต้นที่ผ่าครึ่งตามยาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง เกิดแคลลัสสีขาว เป็นแคลลัสเกาะกันแบบหลวมๆ และแคลลัสสามารถพัฒนาไปเป็นยอดและรากได้ (ตาราง 4.3 และภาพประกอบ 4.3) โคนต้นที่ผ่าครึ่งตามยาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวมีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 10.10 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ต้นอ่อนมีสีเขียวมีใบประมาน 3-6 ใบ ใบที่อยู่บนสุดมีขนาดใหญ่กว่าใบอื่น โคนต้นที่ไม่ผ่าครึ่งตามยาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวมีความยาวยอดเฉลี่ย 1.77 ซม. จำนวนรากเฉลี่ย 5.04 ราก/ชิ้นส่วนพืช รากมีขนาดเล็ก สีขาว มีขนจำนวนมาก ความยาวราก 0.26 ซม. จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่า จำนวนยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย มีความแตกต่างทางสถิติส่วนความยาวยอดเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตาราง 4.3 ผลของชนิดอาหารต่อการเพาะเลี้ยงโคนต้นกระทือ

ชิ้นส่วนพืช	อาหารที่เพาะเลี้ยง	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
โคนต้นไม่ผ่าตามยาว	อาหารแข็ง	0	4.20±0.80^{b}	1.72±0.19^{a}	0^{c}	0^{b}
	อาหารเหลว	0	10.00±0.81^{a}	1.77±0.25^{a}	5.04±1.59^{a}	0.26±0.08^{a}
โคนต้นผ่าตามยาว	อาหารแข็ง	10	5.80±0.80^{b}	1.67±0.17^{a}	0^{c}	0^{b}
	อาหารเหลว	0	10.10±1.26^{a}	1.58±0.15^{a}	1.70±0.65^{b}	0.25±0.07^{a}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

Mahasarakham University



ภาพประกอบ 4.3 ลักษณะยอดและรากของต้นอ่อนกระทือ
ก. ต้นอ่อนไม่ผ่าครึ่งตามยาวเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง
ข. ต้นอ่อนไม่ผ่าครึ่งตามยาวเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลว
ค. ต้นอ่อนผ่าครึ่งตามยาวเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง
ง. ต้นอ่อนผ่าครึ่งตามยาวเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลว

Mahasarakham University

4.1.4 ผลของ NAA และ BA ต่อการเกิดแคลลัส ยอดและรากกระทือ

เมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกระทือขนาด 1 ซม. บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มก/ล ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3 และ 4 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนกระทือที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มก/ล ร่วมกับ BA 3 มก/ล และ NAA 1 มก/ล ร่วมกับ BA 3 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 40% และ 30% ตามลำดับ แคลลัสมีสีขาว เหลืองอ่อน เป็นแคลลัสแบบเกาะกันหลวมๆ และแคลลัสสามารถพัฒนาไปเป็นยอดและรากได้ ต้นอ่อนกระทือที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มก/ล มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 6.70 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ต้นอ่อนมีสีเขียว มีใบประมาณ 6 ใบ ใบออกสลับตรงข้าม ใบที่อยู่บนสุดมีขนาดใหญ่กว่าใบอื่น ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่เติมฮอร์โมน NAA 0.5 มก/ล ร่วมกับ BA 2 มก/ล มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 4.79 ซม. ต้นอ่อนกระทือที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 ร่วมกับ BA 0.5 มก/ล มีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 25.33 ยอด/ชิ้นส่วนพืช รากมีขนาดเล็ก สีขาว มีขนรากจำนวนมาก ต้นอ่อนกระทือที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มก/ล มีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด 3.68 ซม. (ตาราง 4.4 และภาพประกอบ 4.4) จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าจำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

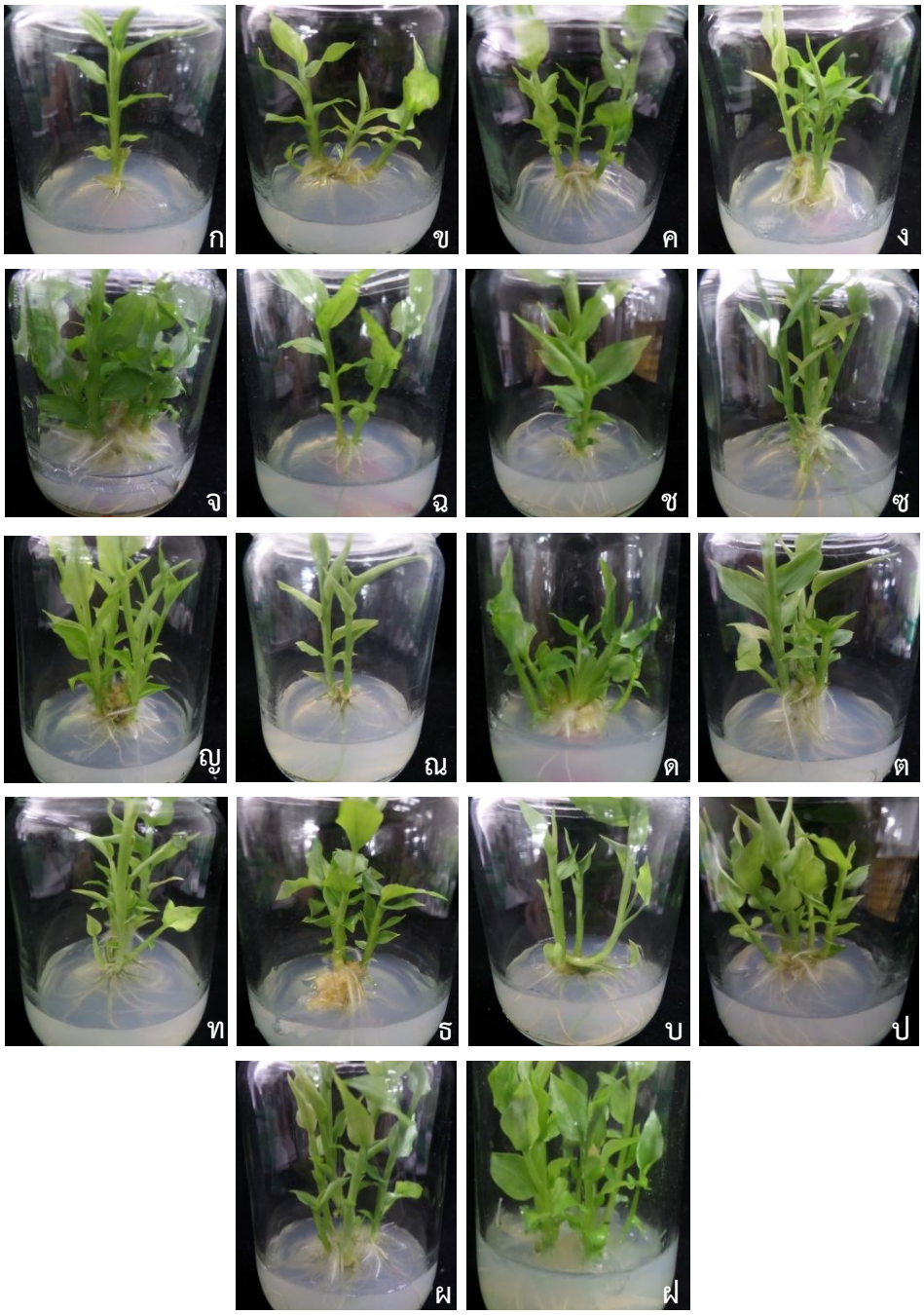
Mahasarakham University

ตาราง 4.4 ผลของ NAA และ BA ต่อการเกิดแคลลัส ยอดและรากของต้นอ่อนกระทือ เมื่อเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

NAA (มก/ล)	BA (มก/ล)	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
0	0	0	1.30±0.21^{c}	4.05±0.34^{abc}	7.60±1.69^{d}	2.22±0.20^{cdef}
0	0.5	0	3.90±0.73^{b}	3.14±0.51^{bcd}	12.90±1.90^{bcd}	1.94±0.21^{defg}
0	1	0	3.10±0.50^{bc}	2.62±0.30^{cd}	13.77±1.16^{bcd}	1.70±0.19^{efg}
0	2	0	4.66±0.70^{b}	3.08±0.26^{bcd}	23.77±3.63^{a}	1.50±0.09^{fg}
0	3	0	6.70±1.16^{a}	2.21±0.22^{d}	19.55±3.06^{abc}	1.37±0.09^{g}
0	4	0	3.77±1.10^{b}	2.22±0.22^{d}	11.00±3.27^{cd}	1.39±0.15^{g}
0.5	0	0	3.60±0.80^{bc}	3.61±0.36^{abcd}	19.00±2.91^{abc}	3.68±0.52^{a}
0.5	0.5	0	2.60±0.33^{bc}	3.96±0.49^{abc}	25.33±1.95^{a}	2.90±0.21^{bc}
0.5	1	0	3.55±1.11^{bc}	4.14±0.57^{abc}	17.12±2.78^{abc}	3.25±0.46^{ab}
0.5	2	0	2.90±0.34^{bc}	4.79±0.44^{a}	24.40±2.78^{a}	2.75±0.17^{bc}
0.5	3	40	4.60±0.77^{b}	3.98±0.50^{abc}	24.80±2.85^{a}	2.40±0.12^{cde}
0.5	4	0	2.50±0.54^{bc}	3.76±0.51^{abc}	13.20±1.84^{bcd}	2.15±0.15^{cdef}
1	0	0	3.00±0.62^{bc}	3.66±0.50^{abcd}	21.33±3.09^{ab}	1.65±0.11^{efg}
1	0.5	0	3.00±0.21^{bc}	4.34±0.45^{ab}	23.60±2.58^{a}	2.16±0.14^{cdef}
1	1	0	3.80±0.59^{b}	4.45±0.55^{ab}	23.60±1.93^{a}	2.27±0.15^{cdef}
1	2	0	3.44±0.64^{bc}	4.40±0.57^{ab}	23.00±2.96^{a}	2.27±0.23^{cdef}
1	3	30	3.88±0.63^{b}	3.26±0.52^{abcd}	24.00±15.82^{a}	1.94±0.18^{defg}
1	4	0	4.33±0.88^{b}	3.52±0.53^{abcd}	15.00±2.44^{bcd}	2.53±0.25^{bcd}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

Mahasarakham University



ภาพประกอบ 4.4 ลักษณะแคลลัส ยอดและรากของต้นอ่อนกระทือเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA และ BA (ตามลำดับ) เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ก. 0, 0 มก/ล	ข. 0, 0.5 มก/ล	ค. 0, 1 มก/ล	ง. 0, 2 มก/ล
จ. 0, 3 มก/ล	ฉ. 0, 4 มก/ล	ช. 0.5, 0 มก/ล	ซ. 0.5, 0.5 มก/ล
ญ. 0.5, 1 มก/ล	ณ. 0.5, 2 มก/ล	ด. 0.5, 3 มก/ล	ต. 0.5, 4 มก/ล
ท. 1, 0 มก/ล	ธ. 1, 0.5 มก/ล	บ. 1, 1 มก/ล	ป. 1, 2 มก/ล
ผ. 1, 3 มก/ล	ฝ. 1, 4 มก/ล		

Mahasarakham University

4.1.5 ผลของชนิดอาหารและวิธีการผ่าโคนต้นต่อการเพาะเลี้ยงโคนต้นกระทือ

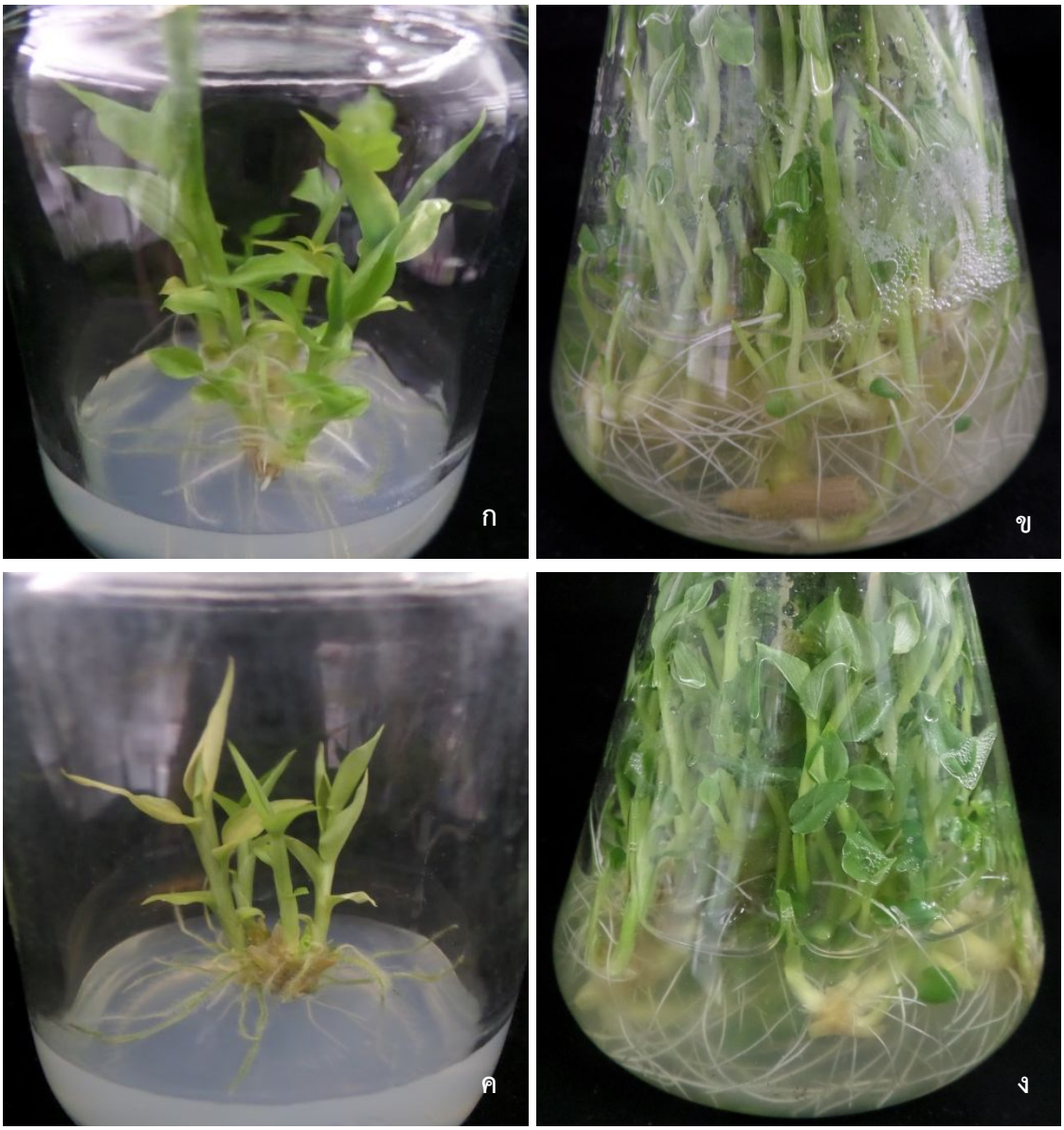
นำโคนต้นขนาด 1 ซม. ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 3 มก/ล มาผ่าครึ่งตามยาวและไม่ผ่าครึ่งตามยาว เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งและอาหารเหลวสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าโคนต้นที่ผ่าครึ่งตามยาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวมีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 14.10 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ยอดมีสีเขียว มีใบ 5-6 ใบ ใบออกสลับตรงข้าม ใบที่อยู่บนสุดมีขนาดใหญ่กว่าใบอื่น โคนต้นที่ผ่าครึ่งตามยาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวมีความยาวยอดเฉลี่ย 5.20 ซม. ยอด/ชิ้นส่วนพืช จำนวนรากเฉลี่ย 18 ราก/ชิ้นส่วนพืช รากมีขนาดเล็ก สีขาว มีขนรากจำนวนมาก ความยาวรากเฉลี่ย 1.69 ราก/ชิ้นส่วนพืช จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าจำนวนยอดเฉลี่ย และความยาวยอดเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติ จำนวนรากเฉลี่ยและความยาวรากเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 4.5 และภาพประกอบ 4.5)

ตาราง 4.5 ผลของชนิดอาหารต่อการเพาะเลี้ยงโคนต้นกระทือ

ชิ้นส่วนพืช	อาหารที่เพาะเลี้ยง	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
โคนต้นไม่ผ่าตามยาว	อาหารแข็ง	0	5.00±1.00^{c}	3.34±0.35^{b}	15.50±2.41^{a}	1.39±0.10^{a}
	อาหารเหลว	0	14.10±1.90^{a}	4.83±0.40^{a}	17.40±1.68^{a}	1.62±0.11^{a}
โคนต้นผ่าตามยาว	อาหารแข็ง	0	5.80±0.89^{bc}	3.33±0.30^{b}	16.50±1.65^{a}	1.38±0.08^{a}
	อาหารเหลว	0	9.50±1.21^{b}	5.20±0.36^{a}	18.00±1.54^{a}	1.69±0.21^{a}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

Mahasarakham University



ภาพประกอบ 4.5 ลักษณะยอดและรากของต้นอ่อนกระทือ
ก. ต้นอ่อนไม่ผ่าครึ่งตามยาวเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง
ข. ต้นอ่อนไม่ผ่าครึ่งตามยาวเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลว
ค. ต้นอ่อนผ่าครึ่งตามยาวเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลว
ง. ต้นอ่อนผ่าครึ่งตามยาวเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลว

Mahasarakham University

4.1.6 การย้ายต้นอ่อนกระทือออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

นำต้นอ่อนกระทือที่มีความสูงประมาณ 7 ซม. มีรากสมบูรณ์ แข็งแรง มาปรับสภาพในห้องที่อุณหภูมิประมาน 30 องศาเซลเซียส นาน 2 สัปดาห์ จากนั้นทำการย้ายต้นอ่อนออกปลูกในวัสดุปลูก ได้แก่ ดินปลูก ทราย แกลบเผา ดินปลูก:ทราย ดินปลูก:แกลบเผา ทราย:แกลบเผา (อัตราส่วน 1:1) และ ดินปลูก:ทราย:แกลบเผา (อัตราส่วน 1:1:1) นำไปปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นกระทือที่ปลูกใน ดินปลูก:ทราย ทราย:แกลบเผา มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 100% มีหน่อใหม่เกิดขึ้น สูงประมาณ 1 ซม. มีใบประมาณ 3 ใบ กระทือที่ปลูกในแกลบเผา มีความสูงต้นอ่อนเฉลี่ยสูงที่สุด 22.60 ซม. ลำต้นเขียว กระทือที่ปลูกในทราย มีจำนวนใบมากที่สุด 10.85 ใบ ใบออกสลับตรงข้าม ใบที่อยู่บนสุดมีขนาดใหญ่กว่าใบอื่น ใบเขียว ขอบใบและปลายใบไหม้ มีจุดสีขาวเล็กๆด้านหลังใบ จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าความสูงต้นอ่อนเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 4.6 และภาพประกอบ 4.6)

ตาราง 4.6 การย้ายต้นอ่อนกระทือออกปลูกในสภาพธรรมชาติ 8 สัปดาห์

วัสดุปลูก	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต	ความสูงต้นอ่อนเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนใบเฉลี่ย
ดินปลูก	0	0^{c}	0^{b}
ทราย	70	19.00 ± 1.58^{a}	10.85 ± 0.40^{a}
แกลบเผา	40	22.60 ± 2.53^{a}	9.75 ± 0.85^{a}
ดินปลูก:ทราย	100	18.36 ± 0.88^{a}	9.30 ± 0.30^{a}
ดินปลูก:แกลบเผา	40	21.02 ± 3.13^{a}	10.75 ± 0.62^{a}
ทราย:แกลบเผา	100	21.15 ± 1.52^{a}	9.90 ± 0.56^{a}
ดินปลูก:ทราย:แกลบเผา	20	16.65 ± 1.35^{b}	9.00 ± 1.00^{a}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

Mahasarakham University

ภาพประกอบ 4.6 ลักษณะต้นกระทือที่นำออกปลูกในวัสดุปลูกต่างกันเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์
ก. ปลูกในดินปลูก
ข. ปลูกในทราย
ค. ปลูกในแกลบเผา
ง. ปลูกในดินปลูก:ทราย (อัตราส่วน 1:1)
จ. ปลูกในดินปลูก:แกลบเผา (อัตราส่วน 1:1)
ฉ. ปลูกในทราย:แกลบเผา (อัตราส่วน 1:1)
ช. ปลูกในดินปลูก:ทราย:แกลบเผา (อัตราส่วน 1:1:1)

Mahasarakham University

4.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระทือลิง

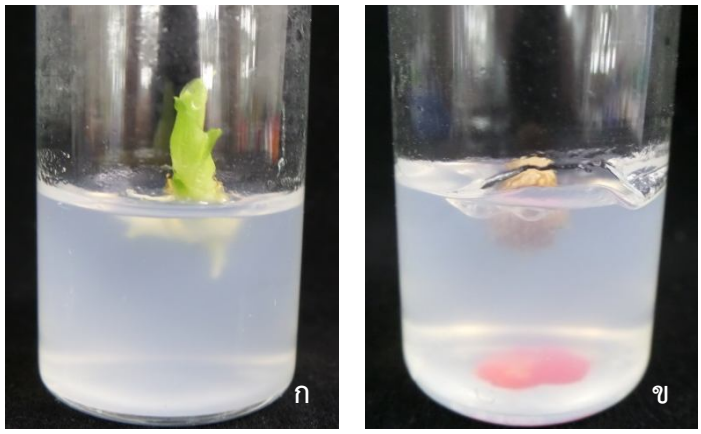
4.2.1 วิธีการเพาะเลี้ยงหน่อย่อยกระทือลิง

เมื่อนำหน่อย่อยที่ผ่าครึ่งตามยาวและไม่ผ่าครึ่งตามยาวที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าหน่อย่อยที่เพาะเลี้ยงเกิดรากสีขาวงอกออกทางด้านป้านของหน่อย่อยเจริญลงด้านล่าง ส่วนยอดเจริญขึ้นด้านบน บริเวณโคนต้นมีสีขาว เหนือโคนต้นมีสีเขียว เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ หน่อย่อยของกระทือที่ผ่าครึ่งตามยาวมีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นอ่อน 50% จำนวนยอดเฉลี่ย 1 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ย 0.54 ซม. จำนวนรากเฉลี่ย 1.10 ราก/ชิ้นส่วนพืช ความยาวรากเฉลี่ย 0.70 ซม. (ตาราง 4.7) ซึ่งแตกต่างจากหน่อย่อยที่ไม่ผ่าครึ่งตามยาวพบว่าไม่เกิดยอดและรากลักษณะหน่อยย่อยยังคงเหมือนเดิมไม่มีการเปลี่ยนแปลง (ภาพประกอบ 4.7)

ตาราง 4.7 เปรียบเทียบวิธีการเพาะเลี้ยงหน่อย่อยกระทือลิง เมื่อเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

วิธีการเพาะเลี้ยง	เปอร์เซ็นต์การเกิดต้นอ่อน	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
หน่อย่อยผ่าครึ่งตามยาว	50	1.00±0.44^{a}	0.54±0.22^{a}	1.10±0.72^{a}	0.70±0.22^{a}
หน่อย่อยไม่ผ่าครึ่งตามยาว	0	0^{b}	0^{b}	0^{b}	0^{b}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT



ภาพประกอบ 4.7 การเพาะเลี้ยงหน่อย่อยกระทือลิง
ก. หน่อย่อยกระทือลิงที่ผ่าครึ่งตามยาวเจริญเป็นต้นอ่อน
ข. หน่อย่อยกระทือลิงที่ไม่ผ่าครึ่งตามยาว

Mahasarakham University

4.2.2 ผลของ TDZ ต่อการเกิดแคลลัส ยอดและรากกระทือลิง

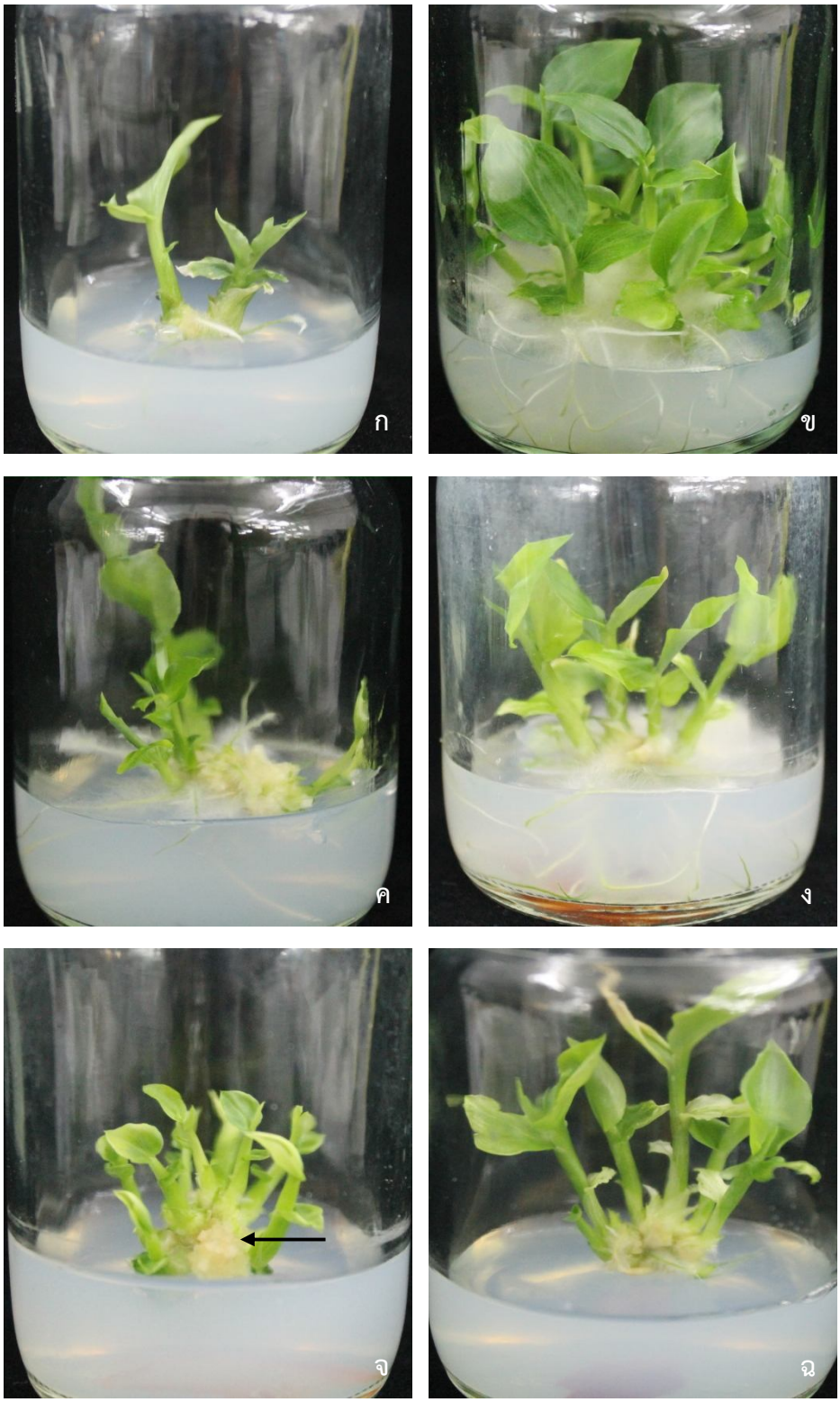
เมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกระทือลิงขนาด 1 ซม. บนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.25, 0.5, 1 และ 2 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนกระทือลิงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.1, 0.5 และ 1 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 30%, 20% และ 20% ตามลำดับ เริ่มเกิดแคลลัสหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ แคลลัสมีสีขาว เป็นแคลลัสเกาะกันแบบหลวมและแคลลัสสามารถพัฒนาไปเป็นยอดและรากได้ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ต้นอ่อนกระทือลิงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 1 มก/ล มีจำนวนยอดมากที่สุด 9.10 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ยอดมีสีเขียว เจริญออกจากบริเวณโคนต้นอ่อน มีใบ 4-5 ใบ ใบที่อยู่บนสุดจะมีขนาดใหญ่กว่าใบอื่น ต้นอ่อนกระทือลิงที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.1 มก/ล มีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 18.6 ราก/ชิ้นส่วนพืช รากมีขนาดเล็ก สีขาว มีขนรากจำนวนมาก ต้นอ่อนกระทือลิงที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 5.89 ซม. และความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด 2.36 ซม. (ตาราง 4.8 และภาพประกอบ 4.8) จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าจำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตาราง 4.8 ผลของฮอร์โมน TDZ ต่อการเกิดแคลลัส ยอดและรากของต้นอ่อนกระทือลิง เมื่อเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

TDZ (มก/ล)	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
0	0	1.50 ± 0.16^{b}	5.89 ± 0.43^{b}	6.40 ± 0.66^{b}	2.36 ± 0.22^{a}
0.1	30	6.30 ± 1.36^{a}	2.34 ± 0.18^{a}	18.60 ± 2.07^{a}	1.45 ± 0.08^{b}
0.25	0	8.30 ± 1.01^{a}	1.70 ± 0.09^{a}	6.30 ± 1.28^{b}	1.07 ± 0.07^{c}
0.5	20	7.00 ± 0.80^{a}	2.03 ± 0.12^{a}	3.90 ± 0.79^{b}	0.71 ± 0.06^{d}
1	20	9.10 ± 1.12^{a}	1.94 ± 0.06^{a}	2.29 ± 0.56^{b}	0.65 ± 0.05^{d}
2	0	9.10 ± 1.37^{a}	2.02 ± 0.05^{a}	2.90 ± 0.76^{b}	0.63 ± 0.09^{d}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

Mahasarakham University



ภาพประกอบ 4.8 ลักษณะแคลลัส (ลูกศรชี้) ยอดและรากของกระทือลิง เมื่อเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์
ก. 0 มก/ล ข. 0.1 มก/ล ค. 0.25 มก/ล ง. 0.5 มก/ล จ. 1 มก/ล
ฉ. 2 มก/ล

Mahasarakham University

4.2.3 ผลของชนิดอาหารและวิธีการผ่าโคนต้นต่อการเพาะเลี้ยงโคนกระทือลิง

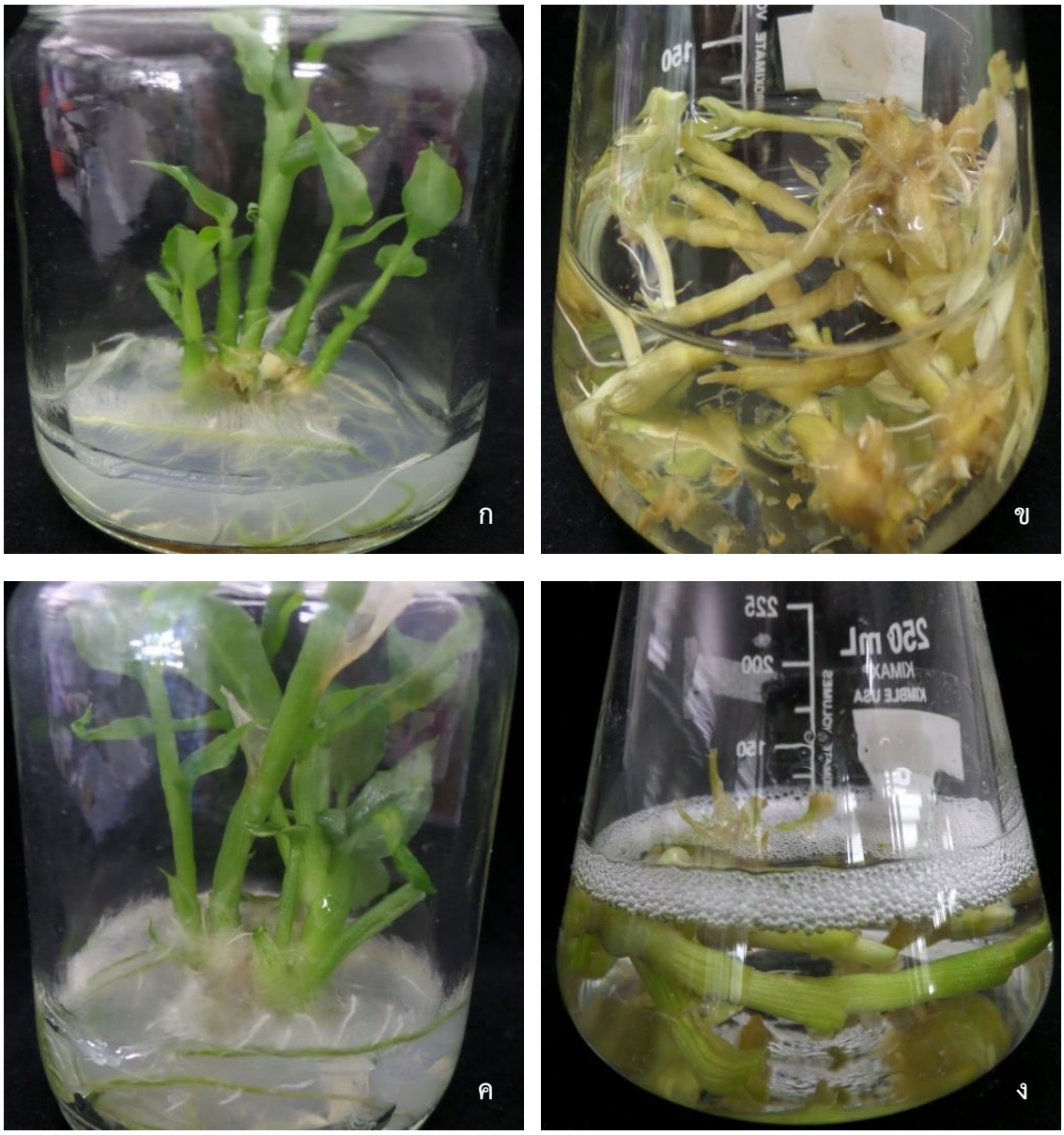
นำโคนต้นขนาด 1 ซม. ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ 2 มก/ล มาผ่าครึ่งตามยาวและไม่ผ่าครึ่งตามยาว เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งและอาหารเหลวสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าโคนต้นที่ผ่าครึ่งตามยาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง เกิดแคลลัสสีขาว เป็นแคลลัสเกาะกันแบบหลวมๆ และแคลลัสสามารถพัฒนาไปเป็นยอดและรากได้ (ตาราง 4.9 และภาพประกอบ 4.9) โคนต้นที่ไม่ผ่าครึ่งตามยาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งมีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 3.50 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ต้นอ่อนมีสีเขียวมีใบประมาน 4-6 ใบ ใบที่อยู่บนสุดมีขนาดใหญ่กว่าใบอื่น โคนต้นที่ผ่าครึ่งตามยาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งมีความยาวยอดเฉลี่ย 6.64 ซม. จำนวนรากเฉลี่ย 14.00 ราก/ชิ้นส่วนพืช รากมีขนาดเล็ก สีขาว มีขนจำนวนมาก ความยาวราก 3.16 ซม. จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่า จำนวนยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย มีความแตกต่างทางสถิติส่วนความยาวยอดเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตาราง 4.9 ผลของชนิดอาหารต่อการเพาะเลี้ยงโคนต้นกระทือลิง

ชิ้นส่วนพืช	อาหารที่เพาะเลี้ยง	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
โคนต้นไม่ผ่าตามยาว	อาหารแข็ง	0	3.50 ± 0.58^{a}	3.80 ± 0.38^{bc}	8.00 ± 1.67^{b}	2.44 ± 0.37^{b}
	อาหารเหลว	0	1.80 ± 0.29^{b}	2.10 ± 0.47^{c}	0.40 ± 0.22^{c}	0.12 ± 0.06^{c}
โคนต้นผ่าตามยาว	อาหารแข็ง	0	2.20 ± 0.20^{b}	6.44 ± 0.84^{a}	14.00 ± 1.55^{a}	3.16 ± 0.13^{a}
	อาหารเหลว	0	1.20 ± 0.29^{b}	4.44 ± 0.40^{b}	6.40 ± 1.39^{b}	0.52 ± 0.51^{c}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

Mahasarakham University



ภาพประกอบ 4.9 ลักษณะยอดและรากของต้นอ่อนกระทือ
ก. ต้นอ่อนไม่ผ่าครึ่งตามยาวเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง
ข. ต้นอ่อนไม่ผ่าครึ่งตามยาวเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลว
ค. ต้นอ่อนผ่าครึ่งตามยาวเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง
ง. ต้นอ่อนผ่าครึ่งตามยาวเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลว

Mahasarakham University

4.2.4 ผลของ NAA และ BA ต่อการเกิดแคลลัส ยอดและรากกระทือลิง

เมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนกระทือลิงขนาด 1 ซม. บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มก/ล ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3 และ 4 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนกระทือลิงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 4 มก/ล และ NAA 0.5 มก/ล ร่วมกับ BA 3 มก/ล NAA 1 มก/ล ร่วมกับ BA 0.5 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 10%, 40% และ 20% ตามลำดับ แคลลัสมีสีขาว เหลืองอ่อน เป็นแคลลัสแบบเกาะกันหลวมๆ และแคลลัสสามารถพัฒนาเป็นยอดและรากได้ ต้นอ่อนกระทือลิงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มก/ล มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 3.80 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ต้นอ่อนมีสีเขียว มีใบประมาณ 6 ใบ ใบออกสลับตรงข้าม ใบที่อยู่บนสุดมีขนาดใหญ่กว่าใบอื่น ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนมีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 6.32 ซม. ต้นอ่อนกระทือลิงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 ร่วมกับ BA 3 มก/ล มีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 24.30 ราก/ชิ้นส่วนพืช รากมีขนาดเล็ก สีขาว มีขนรากจำนวนมาก ต้นอ่อนกระทือลิงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนมีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด 2.94 ซม. (ตาราง 4.10 และภาพประกอบ 4.10) จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าจำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

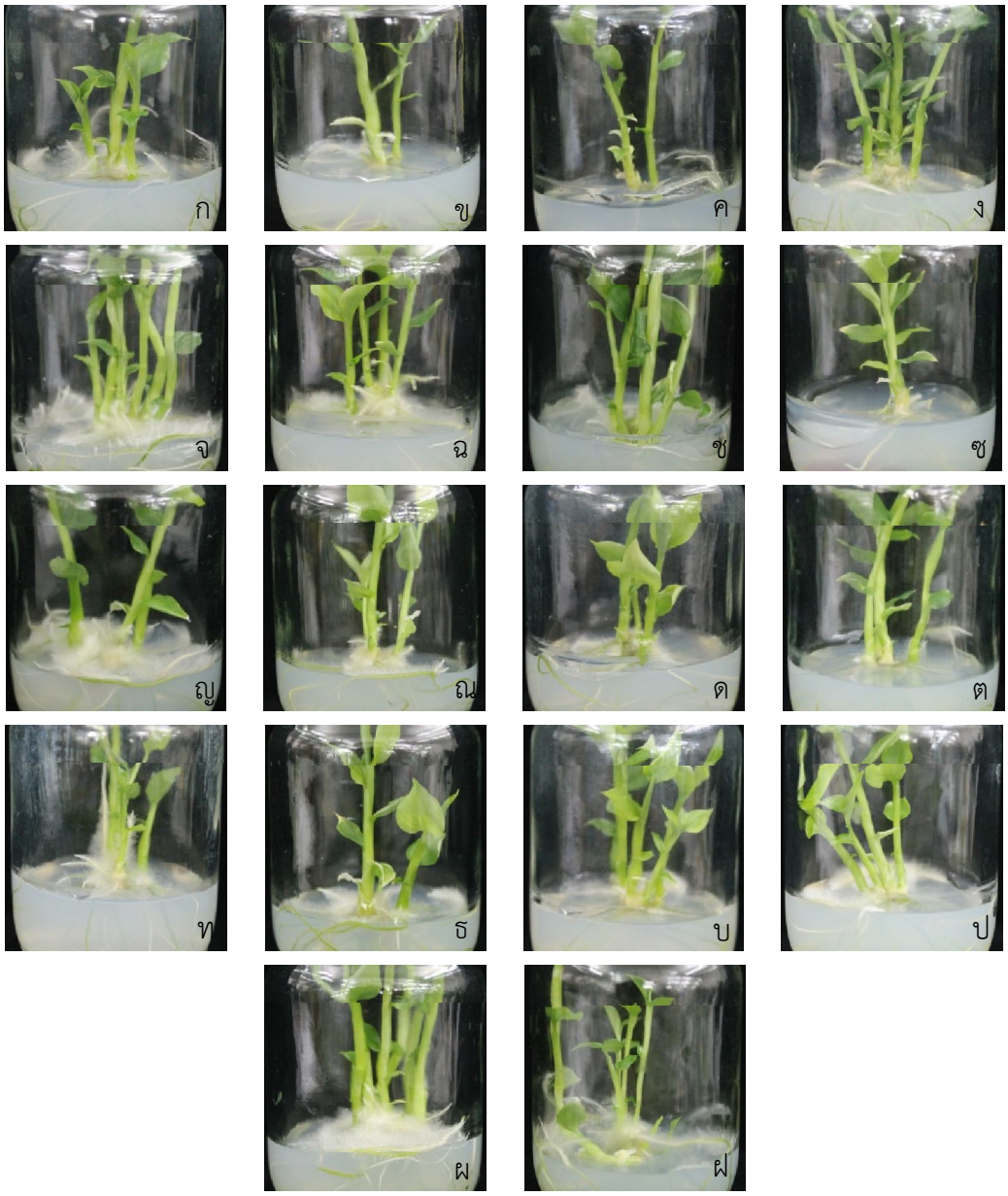
Mahasarakham University

ตาราง 4.10 ผลของ NAA และ BA ต่อการเกิดแคลลัส ยอดและรากของต้นอ่อนกระทือลิง เมื่อเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

NAA (มก/ล)	BA (มก/ล)	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
0	0	0	2.40±0.63^{ab}	6.32±0.35^{a}	7.90±1.11^{h}	2.94±0.12^{a}
0	0.5	0	2.20±0.44^{ab}	4.06±0.44^{bcd}	11.80±1.43^{fgh}	1.78±0.09^{bcd}
0	1	0	2.20±0.64^{ab}	3.80±0.57^{fg}	11.50±1.99^{fgh}	1.26±0.17^{f}
0	2	0	3.00±0.57a^{b}	4.01±0.29^{efg}	14.80±2.36^{defg}	1.43±0.08^{def}
0	3	0	3.80±0.80^{a}	3.72±0.38^{fg}	16.00±2.38^{bcdef}	1.40±0.04^{def}
0	4	10	3.30±0.95^{ab}	3.31±0.49^{g}	15.40±3.24^{defg}	1.34±0.16^{ef}
0.5	0	0	2.40±0.42^{ab}	4.65±0.67^{cdefg}	13.40±2.31^{abc}	1.54±0.19^{cdef}
0.5	0.5	0	1.90±0.40^{b}	5.43±0.38^{abcd}	9.60±1.10^{gh}	2.02±0.12^{b}
0.5	1	0	2.60±0.37^{ab}	5.24±0.13^{abcde}	14.20±1.30^{defg}	1.68±0.11^{bcde}
0.5	2	0	2.20±0.32^{ab}	5.72±0.37^{a}	14.10±1.34^{defg}	1.69±0.08^{bcde}
0.5	3	40	2.40±0.65^{ab}	5.40±0.46^{abcd}	13.90±0.80^{defg}	2.05±0.12^{b}
0.5	4	0	2.70±0.33^{ab}	5.06±0.47^{abcdef}	15.50±2.36^{defg}	1.85±0.09^{bc}
1	0	0	2.10±0.40^{ab}	5.25±0.48^{abcde}	21.40±1.71^{ab}	1.68±0.09^{bcde}
1	0.5	20	2.80±0.51^{ab}	4.84±0.37^{bcdef}	18.80±1.72^{abcd}	1.71±0.07^{bcd}
1	1	0	2.90±0.37^{ab}	5.63±0.30^{abc}	19.80±1.52^{abcd}	1.73±0.12^{bcd}
1	2	0	2.60±0.45^{ab}	6.14±0.25^{ab}	16.20±1.59^{bcdef}	1.84±0.07^{bc}
1	3	0	3.50±0.47^{ab}	5.41±0.42^{abcd}	24.30±1.69^{a}	1.68±0.07^{bcde}
1	4	0	2.90±0.37^{ab}	6.01±0.33^{abc}	20.80±2.15^{abc}	1.94±0.08^{b}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

Mahasarakham University



ภาพประกอบ 4.10 ลักษณะแคลลัส ยอดและรากของต้นอ่อนกระทือลิงเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA และ BA (ตามลำดับ) เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ก. 0, 0 มก/ล	ข. 0, 0.5 มก/ล	ค. 0, 1 มก/ล	ง. 0, 2 มก/ล
จ. 0, 3 มก/ล	ฉ. 0, 4 มก/ล	ช. 0.5, 0 มก/ล	ซ. 0.5, 0.5 มก/ล
ญ. 0.5, 1 มก/ล	ฌ. 0.5, 2 มก/ล	ด. 0.5, 3 มก/ล	ต. 0.5, 4 มก/ล
ท. 1, 0 มก/ล	ธ. 1, 0.5 มก/ล	บ. 1, 1 มก/ล	ป. 1, 2 มก/ล
ผ. 1, 3 มก/ล	ฝ. 1, 4 มก/ล		

Mahasarakham University

4.2.5 ผลของชนิดอาหารและวิธีการผ่าโคนต้นต่อการเพาะเลี้ยงโคนต้นกระทือลิง

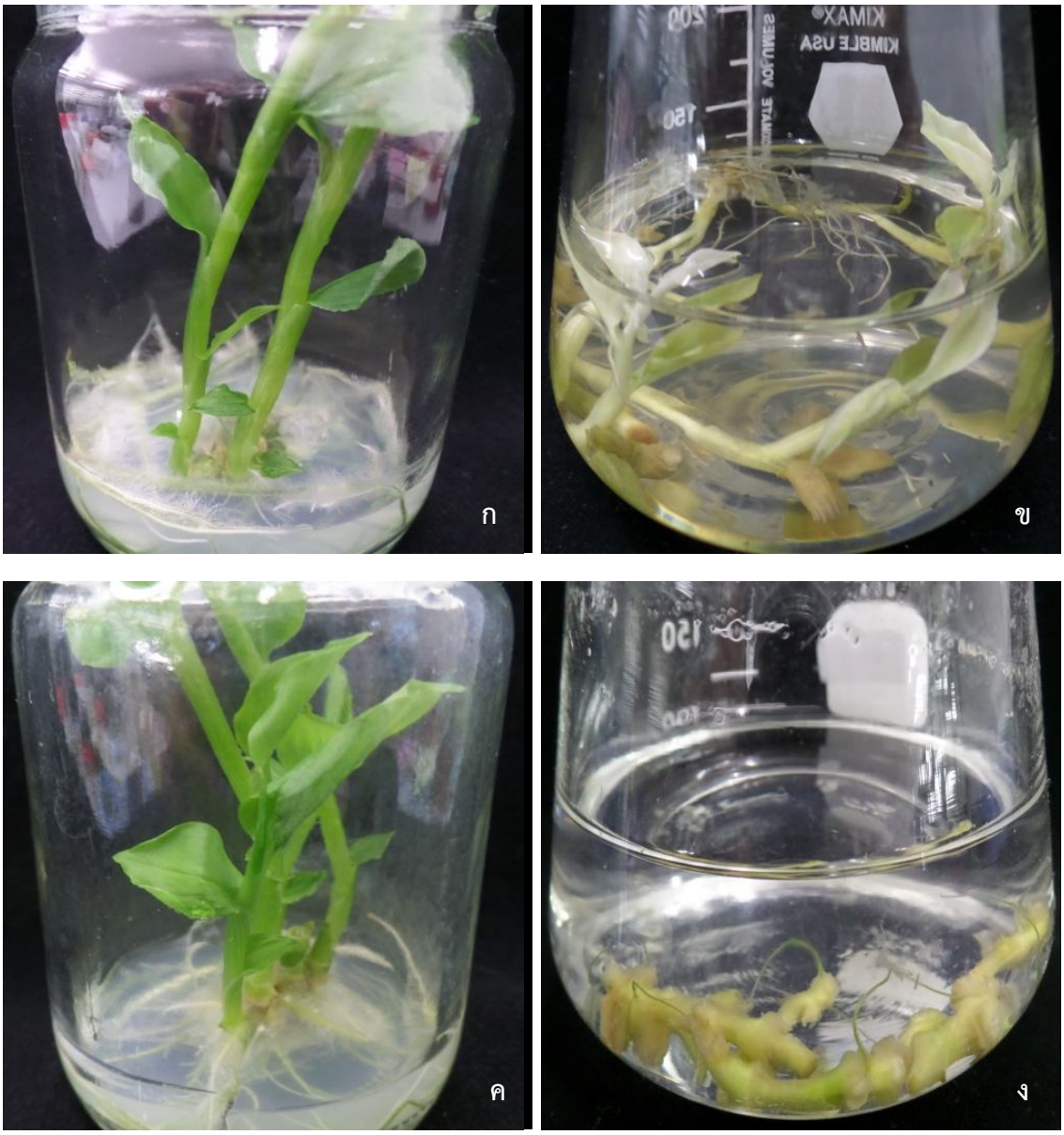
นำโคนต้นขนาด 1 ซม. ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 3 มก/ล มาผ่าครึ่งตามยาวและไม่ผ่าครึ่งตามยาว เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งและอาหารเหลวสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าโคนต้นที่ไม่ผ่าครึ่งตามยาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งมีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 1.70 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ยอดมีสีเขียว มีใบ 5-6 ใบ ใบออกสลับตรงข้าม ใบที่อยู่บนสุดมีขนาดใหญ่กว่าใบอื่น โคนต้นที่ผ่าครึ่งตามยาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งมีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 5.21 ซม. จำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 7.3 ราก/ชิ้นส่วนพืช รากมีขนาดเล็ก สีขาว มีขนรากจำนวนมาก โคนต้นที่ไม่ผ่าครึ่งตามยาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งมีความยาวรากเฉลี่ย 2.35 ราก/ชิ้นส่วนพืช จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าจำนวนยอดเฉลี่ย และความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย มีความแตกต่างกันทางสถิติ และความยาวรากเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 4.11 และภาพประกอบ 4.11)

ตาราง 4.11 ผลของชนิดอาหารต่อการเพาะเลี้ยงโคนต้นกระทือลิง

ชิ้นส่วนพืช	อาหารที่เพาะเลี้ยง	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
โคนต้นไม่ผ่าตามยาว	อาหารแข็ง	0	1.70±0.36^{a}	5.02±0.71^{a}	10.30±1.85^{a}	2.35±0.33^{a}
	อาหารเหลว	0	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{d}	1.70±0.36^{a}
โคนต้นผ่าตามยาว	อาหารแข็ง	0	1.20±0.29^{ab}	5.21±0.88^{a}	7.30±1.62^{ab}	2.20±0.40^{a}
	อาหารเหลว	0	0.60±0.16^{bc}	3.10±1.18^{a}	5.70±1.74^{c}	2.35±0.83^{a}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

Mahasarakham University



ภาพประกอบ 4.11 ลักษณะยอดและรากของต้นอ่อนกระทือลิง
ก. ต้นอ่อนไม่ผ่าครึ่งตามยาวเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง
ข. ต้นอ่อนไม่ผ่าครึ่งตามยาวเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลว
ค. ต้นอ่อนผ่าครึ่งตามยาวเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง
ง. ต้นอ่อนผ่าครึ่งตามยาวเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลว

Mahasarakham University

4.2.6 การย้ายต้นอ่อนกระทือลิงออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

นำต้นอ่อนของกระทือลิงที่มีความสูงประมาณ 10 ซม. มีรากสมบูรณ์ แข็งแรง มาปรับสภาพในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิประมาน 30 องศาเซลเซียล นาน 2 สัปดาห์ จากนั้นทำย้ายต้นอ่อนออกปลูกในวัสดุปลูก ได้แก่ ดินปลูก ทราย แกลบเผา ดินปลูก:ทราย ดินปลูก:แกลบเผา ทราย:แกลบเผา (อัตราส่วน 1:1) และ ดินปลูก:ทราย:แกลบเผา (อัตราส่วน 1:1:1) นำไปปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นกระทือที่ปลูกในทราย มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 80% มีหน่อใหม่เกิดขึ้น สูงประมาณ 1 ซม. มีใบประมาณ 3-5 ใบ มีความสูงต้นเฉลี่ยสูงที่สุด 21.62 ซม. ลำต้นอวบ มีสีเขียว จำนวนใบมากที่สุด 15 ใบ ใบออกสลับตรงข้าม ใบที่อยู่บนสุดมีขนาดใหญ่กว่าใบอื่น ใบเขียว ขอบใบและปลายใบไหม้ พบใบเหี่ยวจำนวนมาก จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าความสูงต้นอ่อนเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ยมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตาราง 4.12 และภาพประกอบ 4.12)

ตาราง 4.12 การย้ายต้นอ่อนกระทือลิงออกปลูกในสภาพธรรมชาติ 8 สัปดาห์

วัสดุปลูก	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต	ความสูงต้นอ่อนเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนใบเฉลี่ย
ดินปลูก	73	14.98±0.85^{d}	10.00±0.40^{b}
ทราย	80	21.62±1.39^{a}	15.00±0.75^{a}
แกลบเผา	60	17.70±0.49c	11.00±0.44^{b}
ดินปลูก:ทราย	66	21.96±1.08^{a}	11.40±0.47^{b}
ดินปลูก:แกลบเผา	73	19.56±0.44^{ab}	9.90±0.39^{b}
ทราย:แกลบเผา	73	19.95±0.84^{ab}	10.09±0.39^{b}
ดินปลูก:ทราย:แกลบเผา	60	12.00±0.00^{d}	9.00±0.00^{b}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

Mahasarakham University

ภาพประกอบ 4.12 ลักษณะต้นกระทือลิงเมื่อนำออกปลูกเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์

ก. ปลูกในดินปลูก

ข. ปลูกในทราย

ค. ปลูกในแกลบเผา

ง. ปลูกในดินปลูก:ทราย (อัตราส่วน 1:1)

จ. ปลูกในดินปลูก:แกลบเผา (อัตราส่วน 1:1)

ฉ. ปลูกในทราย:แกลบเผา (อัตราส่วน 1:1)

ช. ปลูกในดินปลูก:ทราย:แกลบเผา (อัตราส่วน 1:1:1)

Mahasarakham University

บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

การเพาะเลี้ยงหน่อย่อยกระทือที่ผ่าครึ่งตามยาว เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 3 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นอ่อนมากที่สุด 20% จำนวนยอดเฉลี่ย 3.5 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ย 1.2 ซม. จำนวนรากเฉลี่ย 4 ราก/ชิ้นส่วนพืช และความยาวเฉลี่ยราก 1.8 ซม.ซึ่งมากกว่าหน่อย่อยที่นำมาเพาะเลี้ยงโดยไม่ผ่าครึ่งตามยาว นำต้นอ่อนกระทือมาเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารที่มีฮอร์โมน NAA ร่วมกับ BA มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 40% มากกว่าต้นอ่อนกระทือที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมเฉพาะฮอร์โมน TDZ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 30% ต้นอ่อนกระทือที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 2 มก/ล มีจำนวนยอดมากที่สุด 7.10 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ต้นอ่อนกระทือเกิดรากได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มก/ล ร่วมกับ BA 0.5 มก/ล มีจำนวนรากเฉลี่ย 25.33 ราก/ชิ้นส่วนพืช โคนต้นกระทือที่ไม่ผ่าครึ่งตามยาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวสูตร MS มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 14.10 ยอด/ชิ้นส่วนพืช เมื่อย้ายต้นอ่อนกระทือออกปลูกใน ดินปลูก:ทราย และทราย:แกลบเผา อัตราส่วน 1:1 มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 100%

การเพาะเลี้ยงหน่อย่อยกระทือลิงที่ผ่าครึ่งตามยาว เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 3 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นอ่อนมากที่สุด 50% จำนวนยอดเฉลี่ย 1 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ย 10.54 ซม. จำนวนรากเฉลี่ย 1.10 ราก/ชิ้นส่วนพืช และความยาวรากเฉลี่ย 0.70 ซม. ซึ่งมากกว่าหน่อย่อยที่นำมาเพาะเลี้ยงโดยไม่ผ่าครึ่งตามยาว นำต้นอ่อนกระทือมาเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารที่มีฮอร์โมน NAA ร่วมกับ BA มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 40% มากกว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมเฉพาะฮอร์โมน TDZ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 30% ต้นอ่อนกระทือลิงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 1 มก/ล และ TDZ 2 มก/ล มีจำนวนยอดมากที่สุด 9.10 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ต้นอ่อนกระทือลิงเกิดรากได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มก/ล ร่วมกับ BA 3 มก/ล มีจำนวนราก 24.30 ราก/ชิ้นส่วนพืช โคนต้นกระทือลิงที่ไม่ผ่าครึ่งตามยาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 1.70 ยอด/ชิ้นส่วนพืช เมื่อย้ายต้นอ่อนกระทือลิงออกปลูกในทราย มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 80%

5.2 อภิปรายผล

เมื่อนำหน่อย่อยกระทือและกระทือลิงที่ผ่าครึ่งตามยาวและไม่ผ่าครึ่งตามยาวมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.5 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าหน่อย่อยของกระทือและกระทือลิงที่ผ่าครึ่งตามยาว มีเปอร์เซ็นต์การการเกิดต้นอ่อน จำนวนยอดและจำนวนรากมากกว่าหน่อย่อยที่นำมาเพาะเลี้ยงโดยไม่ผ่าครึ่งตามยาว เนื่องจากการผ่าครึ่งหน่อย่อยตามยาวทำให้เนื้อเยื่อพืชได้สัมผัสอาหารทุกส่วนและดูดซับอาหารทั่วถึง เพราะมีพื้นที่ผิวสัมผัสกับอาหาร

Mahasarakham University

มาก จึงดูดซับอาหารไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ของเนื้อเยื่อ มีผลทำให้เนื้อเยื่อพืชเจริญได้ดี ต่างจากรายงานของ Kho *et al.* (2010) ขยายพันธุ์ *Globba brachyanthera* K. Schum. โดยใช้หน่อย่อยที่ไม่ผ่าครึ่งนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร Gamborg B5 (B5) ที่เติม BAP 3 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ เกิดยอดมากที่สุด 6.6 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช แต่การทดลองครั้งนี้หน่อย่อยที่ผ่าครึ่งตามยาวเกิดยอดได้ดีกว่าหน่อย่อยที่ไม่ผ่าครึ่ง มีจำนวนยอด 3.5 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่า ชนิดของพืช สูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง และฮอร์โมนที่ใช้มีความแตกต่างกันจึงทำให้ผลการทดลองที่ได้แตกต่างกัน

ต้นอ่อนกระทือและกระทือลิงความยาว 1 ซม. เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ความเข้มข้นต่างกัน พบว่าต้นอ่อนกระทือและกระทือลิงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.1 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสดีที่สุด 30% แตกต่างจากการทดลองของ Zhang *et al.* (2011) เพาะเลี้ยงเหง้า *Curcuma soloensis* Valeton. บนอาหารที่เติม TDZ 2.5 ไมโครโมล BA 2 ไมโครโมล และ 2,4-D 1.2 ไมโครโมล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 91.1% ต้นอ่อนกระทือที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 2 มก/ล มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 7.10 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ต้นอ่อนกระทือลิงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 1 มก/ล และ TDZ 2 มก/ล มีจำนวนยอดมากที่สุด 9.10 ยอด/ชิ้นส่วนพืช สอดคล้องกับงานวิจัยอื่นๆที่นำฮอร์โมน TDZ มาชักนำให้เกิดยอดในพืชวงศ์ขิงชนิดอื่น เช่น Srirat *et al*. (2008) เพาะเลี้ยงตาเหง้าของ *Curcuma longa* L. บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ 5 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ เกิดยอดมากที่สุด 6.65 ยอดต่อชิ้นส่วน Lo-apirukkul *et al*. (2012) เพาะเลี้ยง *C. comosa* Roxb. ในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ 18.16 ไมโครโมล สามารถชักนำยอดดีที่สุด 11.82 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช Zhang *et al.* (2011) เพาะเลี้ยงเหง้า *C. soloensis* บนอาหารที่เติม TDZ 2.5 ไมโครโมล สามารถชักนำยอดดีที่สุด 18.7 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช Hamirah *et al*. (2010) เพาะเลี้ยงตาเหง้าของ *Zingiber montanum* Koenig. บนอาหารสูตร B5 ที่เติมฮอร์โมน TDZ 0.5 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ สามารถชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด 8.14 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ทั้งนี้อาจเนื่องจาก TDZ เป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโทไคนินมี ผลกระตุ้นให้เกิดพืชต้นใหม่ได้ทั้งผ่านการเกิดแคลลัส โซมาติกเอ็มบริโอ และยอดจำนวนมาก กระตุ้นการแบ่งเซลล์และชักนำให้เกิดต้นพิเศษ (adventitious shoot) (Lu, 1993) จากการทดลองพบว่าหากเพิ่มความเข้มข้นของฮอร์โมน TDZ จะทำให้ต้นอ่อนกระทือเกิดยอดเพิ่มมากขึ้น แต่เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสลดลง หากลดความเข้มข้นของฮอร์โมน TDZ หรือไม่เติมฮอร์โมน TDZ ในอาหารเพาะเลี้ยงทำให้ยอดและรากมีความยาวมาก เกิดรากจำนวนมาก และพบว่าเมื่อเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากมีผลทำให้เกิดยอดจำนวนน้อย ทั้งนี้อาจเป็นเพราะฮอร์โมน TDZ เป็นสารสังเคราะห์ที่มีฤทธิ์เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช โดยออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนไซโตไคนิน และมีผลต่อการเจริญและพัฒนาการต่างๆของพืชเมื่อใช้ในความเข้มข้นต่ำ เมื่อเทียบกับไซโตไคนินชนิดอื่นๆ สามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก ตาดอก แคลลัส และโซมาติกเอ็มบริโอ ขึ้นกับความเข้มข้น ชิ้นส่วนพืช และชนิดของพืช การออกฤทธิ์เกี่ยวข้องกับการเพิ่มระดับของออกซินและไซโตไคนินภายในเซลล์พืชให้สูงขึ้น การใช้ฮอร์โมน TDZ ที่มีประสิทธิภาพควรใช้ในระดับความเข้มข้นต่ำ ถ้าใช้ความเข้มข้นสูงเกินไปจะทำให้ความแข็งแรงของยอดลดลง (วราภรณ์ ฉุยฉาย, 2555)

ต้นอ่อนกระทือและกระทือลิงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้นต่างกัน พบว่าต้นอ่อนกระทือและกระทือลิงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มก/ล ร่วมกับ BA 3 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสดีที่สุด 40% แตกต่างจากการทดลองของ

Mahasarakham University

Saensouk (2011) เพาะเลี้ยงใบอ่อนของว่านเปราะทอง (*Cornukaempferia aurantiflora* Mood & Larsen) ในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน 2,4-D 2.0 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 95% Kou *et al.* (2013) เพาะเลี้ยงเรณูของ *Curcuma attenuate* Wall. ในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน 2,4-D 13.6 ไมโครโมล ร่วมกับ Kinetin 2.3 ไมโครโมล เพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 33.3% อาจจะเป็นเพราะความแตกต่างของชิ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงในการทดลองนี้ใช้ต้นอ่อนขนาด 1 ซม. มาเพาะเลี้ยงและใช้ฮอร์โมนออกซินร่วมกับไซโตไคนิน ในขณะที่การทดลองอื่นๆ ใช้ฮอร์โมน 2,4-D ซึ่งเป็นฮอร์โมนในกลุ่มออกซินในการชักนำให้เกิดแคลลัส ต้นอ่อนกระทือและกระทือลิงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มก/ล มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 6.70 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และ 3.80 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ตามลำดับ สอดคล้องกับการทดลองของ Rahayu *et al*. (2004) เพาะเลี้ยงยอดของ *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. บนอาหารที่เติม BAP 5 มก/ล เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เกิดยอดดีที่สุด 2.50 ยอด/ชิ้นส่วนพืช แตกต่างจาก Rahman *et al.* (2005) และ Kambaska and Santilata (2009) ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชวงศ์ขิงเพื่อชักนำให้เกิดยอดในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA ร่วมกับ BA จากการทดลองพบว่าหากเติมฮอร์โมน BA เพียงชนิดเดียว จะกระตุ้นการเกิดยอดจำนวนมาก เนื่องจากฮอร์โมน BA เป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโทไคนินมีผลกระตุ้นการแบ่งเซลล์ การเจริญของตาข้าง การเกิดหน่อเล็กๆและการเกิดยอด (Saensouk, 2010) แต่การเติมฮอร์โมน NAA อย่างเดียว ทำให้รากมีความยาวมาก ฮอร์โมน NAA เป็นฮอร์โมนในกลุ่มออกซินช่วยกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการเกิดรากและหากเติมฮอร์โมน NAA ร่วมกับ BA ทำให้ยอดมีความยาวเฉลี่ยมาก และมีจำนวนรากมากขึ้น จากการทดลองในครั้งนี้พบว่าต้นอ่อนกระทือที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ลักษณะต้น รากมีขนาดใหญ่และแข็งแรงกว่าต้นอ่อนกระทือที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ BA เหมาะที่จะนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้ ส่วนฮอร์โมน BA เป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโทไคนิน ฮอร์โมน NAA เป็นฮอร์โมนในกลุ่มออกซิน ซึ่งอัตราส่วนระหว่างออกซินและไซโตไคนินมีความสำคัญต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อในเซลล์พืช เมื่อนำเนื้อเยื่อพาเรงคิมามาเลี้ยงในอาหารที่มีออกซินและไม่มีไซโตไคนิน เซลล์จะมีขนาดใหญ่ขึ้นแต่ไม่แบ่งเซลล์ เมื่อใช้ไซโตไคนินร่วมกับออกซินเซลล์จึงจะขยายขนาดพร้อมกับมีการแบ่งเซลล์ อย่างไรก็ตาม เมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารที่มีไซโตไคนินเท่านั้น จะไม่เกิดผลใดๆ ถ้าใช้ไซโตไคนินและออกซินในปริมาณเท่าๆกัน เนื้อเยื่อพาเรงคิมาจะเจริญเป็นแคลลัส ถ้ามีไซโตไคนินมากกว่าออกซินจะเจริญเป็นยอด ถ้าออกซินมากกว่าไซโทไคนินจะเจริญเป็นราก (Kakimoto, 2003) ไซโทไคนินจะกระตุ้นการแบ่งเซลล์ในเนื้อเยื่อพืช ในธรรมชาติ พืชจะสร้างไซโทไคนินออกมาควบคุมการแบ่งเซลล์ การเปลี่ยนภาพของเซลล์ (cell differentiation) ไปเป็นเนื้อเยื่อ ทำให้เกิดการเติบโตและสร้างผลและเมล็ด ออกซินเร่งการเจริญเติบโต กระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์ การยืดตัวของเซลล์ กระตุ้นการแบ่งเซลล์ของเนื้อเยื่อเจริญทำให้ส่วนต่างๆ ของพืชยืดยาว สร้างผนังเซลล์มากขึ้น เร่งการเกิดรากซึ่งเกิดจากการแบ่งเซลล์ชั้นเพริไซเคิล (pericycle) ที่ถูกกระตุ้นด้วยออกซิน ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ที่บริเวณรอยตัดกิ่งนำไปสู่การเกิดรากพิเศษ (adventitious toots) (พูนพิภพ เกษมทรัพย์, 2546)

เพาะเลี้ยงโคนต้นกระทือและกระทือลิงที่ผ่าครึ่งตามยาวและไม่ผ่าครึ่งตามยาวบนอาหารแข็งและอาหารเหลวสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าโคนต้นกระทือที่ไม่ผ่าครึ่งตามยาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเหลว มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 14.10 ยอด/ชิ้นส่วนพืช เนื่องจากการผ่าครึ่งตามยาวและการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวทำให้ชิ้นส่วนพืชได้สัมผัสอาหารมากกว่าเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งและดูดซับ

Mahasarakham University

อาหารได้เร็วกว่า และโคนต้นกระทือลิงที่ไม่ผ่าครึ่งตามยาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งมีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 3.50 ยอด/ชิ้นส่วนพืช สอดคล้องกับการทดลองของ Chong *et al.* (2012) นำยอดของ *Curcuma zedoaria* Rosc. ที่ไม่ผ่าแบ่งครึ่งนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่ายอดที่นำมาเพาะเลี้ยงโดยไม่ผ่าแบ่งเกิดยอดได้จำนวนมากกว่ายอดที่ผ่าแบ่งครึ่ง แตกต่างจากการเพาะเลี้ยงโคนต้นกระทือ Chan and Chong (2010) ผ่าแบ่งยอดของ *Alocasia longiloba* นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว พบว่าการพาะเลี้ยงในอาหารเหลวทำให้เกิดยอดใหม่มากที่สุด จากการทดลองจะพบว่าเมื่อนำเนื้อเยื่อมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS มีการเกิดยอดมากที่สุด อาจจะเป็นไปได้ว่าชิ้นส่วนพืชสามารถดูดซับอาหารเหลวได้เร็วกว่าอาหารแข็ง เนื้อเยื่อพืชสามารถนำอาหารไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ทันที สอดคล้องกับการทดลองของ Rizvi *et al.* (2007) ที่เพาะเลี้ยง *Chlorophytum borivilianum* Sant. ในอาหารเหลวพบว่ามีจำนวนยอดมากกว่าที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง

นำต้นอ่อนกระทือและกระทือลิงที่มีต้นและรากสมบูรณ์ แข็งแรง มาปรับสภาพในห้องที่อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส นาน 2 สัปดาห์ จากนั้นทำการย้ายต้นอ่อนออกปลูกในวัสดุปลูก ได้แก่ ดินปลูก ทราย แกลบเผา ดินปลูก:ทราย ดินปลูก:แกลบเผา ทราย:แกลบเผา (อัตราส่วน 1:1) และดินปลูก:ทราย:แกลบเผา (อัตราส่วน 1:1:1) นำไปปลูกในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นกระทือที่ปลูกในดินปลูก:ทราย ทราย:แกลบเผา มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 100% ต้นกระทือที่ปลูกในแกลบเผามีความสูงมากที่สุด ต้นกระทือที่ปลูกในทรายมีจำนวนใบมากที่สุด ลำต้นและรากแข็งแรงบาง ต้นลำต้นมีการโค้งงอ มีหน่อใหม่เกิดขึ้น ใบออกสลับตรงข้าม ใบที่อยู่บนสุดมีขนาดใหญ่ สีเขียว บางใบขอบใบไหม้ ส่วนต้นกระทือลิงที่ปลูกในทรายมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 80% มีจำนวนใบมากที่สุด และต้นกระทือลิงที่ปลูกในดินปลูก:ทราย มีความสูงมากที่สุด ต้นและรากแข็งแรง ลำต้นอวบกว่าต้นกระทือ ใบออกสลับตรงข้าม ใบที่อยู่บนสุดมีขนาดใหญ่ สีเขียว บางใบขอบใบไหม้ แตกต่างจากการทดลองของ Abbas *et al*. (2011) ที่ปลูกต้นอ่อน *Zingiber officinale* Rosc. ในพีทมอส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 100% Zhang *et al.* (2011) ย้ายต้นอ่อน *Curcuma soloensis* Valeton ปลูกในทราย:หินภูเขาไฟ:พีทมอส (อัตราส่วน 1:1:1) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 100% Kochuthressia *et al.* (2012) ย้ายต้นอ่อน *Kaempferia galanga* L. ปลูกในดิน:ทราย:ปุ๋ยคอก (อัตราส่วน 1:1:2) เป็นเวลา 5 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 100% Yunus *et al.* (2012) ย้ายต้นอ่อน *Etlingera elatior* (Jack) (torch ginger) ปลูกในทราย:ดิน:พีทมอส (อัตราส่วน 1:1:1) เป็นเวลา 6 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 93.33% Chirangini *et al.* (2005) ย้ายต้นอ่อน *Kaempferia galanga* L. ปลูกในทราย:ปุ๋ยคอก (อัตราส่วน 1:1) เป็นเวลา 12 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 80-90% Hamirah *et al.* (2010) ย้ายต้นอ่อน *Zingiber montanum* Koenig. ปลูกในดิน:ทราย:พีท (อัตราส่วน 1:1:1) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 85% Abdelmageed *et al.* (2011) ย้ายต้นอ่อน *Etlingera elatior* ปลูกในทราย:พีทมอส (อัตราส่วน 1:1) เป็นเวลา 3 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 85% Raihana *et al.* (2011) ย้ายต้นอ่อน *Curcuma manga* Val. & Zijp. ปลูกในดิน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 75% จากการทดลองในครั้งนี้พบว่าวัสดุปลูกที่มีส่วนประกอบของทรายทำให้กระทือและกระทือลิงเจริญเติบได้ดี มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องจากทรายสามารถระบายน้ำและอากาศได้ดี ต้นกระทือที่ปลูกในดินไม่สามารถเจริญเติบโตได้ดี ทั้งนี้อาจจะเป็นไปได้ว่าลำต้นกระทือมีขนาดเล็ก การเจริญของไซเล็ม (xylem)

Mahasarakham University

และโฟลเอ็ม (phloem) ยังมีการเจริญไม่เต็มที่ ทำให้การลำเลียงน้ำและแร่ธาตุอาหารยังไม่ดี ในขณะที่ต้นกระทือลิงที่ปลูกในดินสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี และเนื่องจากลำต้นของกระทือลิงมีขนาดใหญ่ อวบ ใบใหญ่ สีเขียวเข้มทำให้สามารถลำเลียงน้ำและแร่ธาตุอาหารเพื่อนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ดี ต้นกระทือและกระทือลิงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองเมื่อย้ายปลูกในวัสดุปลูกชนิดต่าง ๆ ลักษณะลำต้นและใบมีลักษณะสัณฐานวิทยาภายนอกเหมือนต้นแม่ที่ปลูกในสภาพธรรมชาติ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุลหงส์เหินชนิดอื่นโดยการเพาะเลี้ยงหน่อย่อย และยังสามารถนำไปใช้ในการขยายพันธุ์และอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิงต่อไป

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 ควรศึกษาการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินชนิดอื่น เช่น Kinetin และ Zeatin เพื่อชักนำให้เกิดยอด

5.3.2 ควรศึกษาการใช้ฮอร์โมน TDZ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินเพื่อกระตุ้นการเกิดยอดและราก

5.3.3 ควรนำหน่อย่อยขนาดที่แตกต่างกันมาเพาะเลี้ยง เพื่อศึกษาขนาดและตำแหน่งหน่อย่อยที่เหมาะสมเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง

5.3.4 ควรศึกษาสารประกอบอินทรีย์ เช่น น้ำมะพร้าว มอลท์สกัด และกล้วยบด ต่อการเจริญของต้นอ่อน

5.3.5 ควรตรวจปริมาณธาตุอาหารในดิน เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม หรือวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของดิน หรือคุณสมบัติของดินเพื่อทราบลักษณะของดินที่พืชเจริญเติบโตได้ดี

Mahasarakham University

เอกสารอ้างอิง

Mahasarakham University

เอกสารอ้างอิง

คำนูณ กาญจนภูมิ. (2542). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช.* กรุงเทพฯ: ด่านสุทธาการพิมพ์.

ณัฐพงศ์ จันจุฬา. (2554). *การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอและการเพิ่มปริมาณยอดของหงส์เหิน.* กรุงเทพฯ: ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ณรงค์ศักดิ์ ค้านอธรรม. (2554). *ว่าน สมุนไพร ไม้มงคลไทย.*กรุงเทพฯ: บ้านและสวน.

ธิดา ชยุติมันต์กุล และพิมพ์ใจ อาภาวัชรุตม์. (2554). *ผลของ 2,4-D ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนโคนต้นหงส์เหินดอกขาว (Globba winitii Wright)*. เอกสารการประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์**.** 11-13 กรกฎาคม 2544, กรุงเทพฯ: หน้า 163.

นฤภร วสุนธราภิวัฒก์, งามนิจ ชื่นบุญงาม และทยา เจนจิตติกุล. (2554). *การพัฒนาขนาดและความยาวรากต้นเข้าพรรษาทางเงิน (Globba substrigosa Wall. ex Baker) ในหลอดทดลอง*. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

พูนพิภพ เกษมทรัพย์. (2549). *ชีววิทยา 2.* พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มูลนิธิ สอวน.

พวงเพ็ญ ศิริรักษ์. (2544). พรรณพืชวงศ์ขิงของไทย. ใน *การประชุมวิชาการประจำปี โครงการ BRT ครั้งที่ 5 วันที่ 8-11 ต.ค. 2544. โครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย,* กรุงเทพฯ: บริษัท จิรวัฒน์ เอ็กซ์เพรส จำกัด, หน้า 63-77.

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. (2541). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช:หลักการและเทคนิค.* กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วงศ์สถิต ฉั่วสกุล และอำพล บุญเปล่ง. (2546). สมุนไพรพื้นบ้านวงศ์ขิง (1). *วารสารสมุนไพร*, 10(1), 33-39.

วราภรณ์ ฉุยฉาย. (2555). ผลของไทเดียซูรอนต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. *วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา*, 4(2), 123-135.

สุรพล แสนสุข. (2543) *การศึกษาสัณฐานวิทยา โครโมโซม และละอองเรณูของพืชวงศ์ขิงในอุทยานแห่งชาติภูพาน*. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Abbas, M.S, Taha, H.S. and Aly, U.I. (2011). In vitro propagation of Ginger (Zingiber officinale Rosco). *Journal of Engineering and Biotechnology*, 9, 165-172.

Abdelmageed, A.H.A., Faridah, Q.Z., Norhana, F.M.A., Julia, A.A., and Kadir, M.A. (2011). Micropropagation of Etlingera elatior (Zingiberaceae) by using axillary bud explants. *Journal of Medicinal Plants Research,* 5(18), 4465-4469.

Bhattacharya, M. and Sen, A. (2013). In vitro regeneration of pathogen free Kaempferia galanga L. – a rare medicinal plant. *Plant Biology*, 3(3), 24-30.

Chanchula, N., Jala, A. and Taychasinpitak, T. (2013). Break dormancy by trimming immature Globba spp. *Applied Sciences & Technologies*, 4(3), 171-178.

Chang, K.L. and Chong, T.Y. (2010). Establishment of a rapid in vitro propagation system for Alocasla longilobamiq ‘Watsoniana’. *Biological Sciences,* 10, 24-28.

Mahasarakham University

Chirangini, P., Sinha, S.K. and Sharma GJ (2004). In vitro propagation and microrhizome induction in Kaempferia galanga L. and K. rotunda L. *Indian Journal of Biotechnoligy,* 4, 404-408.

Chithra, M., Martin, K.P. and Sunandakumari, C. (2004). Protocol for rapid propagation, and to overcome delayed rhizome formation in field established in vitro derived plantlets of Kaempferia galanga L. *Scientia Horticulturae*, 104, 113-120.

Chong, Y.H., Khalafalla, M.M., Bhatt, A. and Chan, L.K. (2012). The effects of culture systems and explant incision on in vitro propagation of Curcuma zedoaria Rosc. *Pertanika Journal*, 35(4), 863-874.

Chuakul, W. (2005). *Taxonomy of medicinal plants*. Thai: Faculty of Pharmacy, Mahidol University.

Gopan, R., Varughese, G., Mathew, Dan & Mathur, G. (2010). Essential Oil Composition of Globba schomburgkii Hook. f. and Globba ophioglossa Wight. *Essential Oil Research,* 22(3), 220-222.

Hamirah, M.N., San, H.B., Boyce, P.C. and Sim, S.L. (2010). Micropropagation of red ginger (Zingiber montanum Koenig), a medicinal plant. *Molecular Biology and Biotechnology,* 18(1), 127-130.

Hoang, N., Duc, D.T., Kwon, T.H. and Yang, M.S. (2004). Mircropropagation of zedoary (Curcuma zedoaria Roscoe) – a valuable medicinal plant. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture,* 8, 119-122.

Jala, A., Chanchula, N. and Taychasinpitak, T. (2013). Multiplication new shoots from embryo culture on Globba spp. *Applied Sciences & Technologies*, 4(3), 207-214.

Kakimoto T. (2003). Biosynthesis of cytokinins. *Journal of Plant Research*, 116, 233-239.

Kambaska, K.B. and Santilata, S. (2009). Effect of plant growth regulator on micropropagation of ginger (Zingiber officinale Rosc.). cv-Suprava and Suruchi. *Agricultural Technology*, 7(2), 271-280.

Kho, P.E., Sani, H.B., Boyce, P.C. ans Sim, S.L. (2010). In vitro propagation of Globba brachyanthera K.Schum. *Journal of Engineering and Biotechnology*, (18)1, 119-122.

Kochuthressia, K.,P., Britto, S.J. and Jaseentha, M.O. (2012). In vitro multiplication of Kaempferia galanga L. An endangered species. *Biotechnology*, (3)2, 027-031.

Kou, Y., Ma, G., Jaime, A., Silva, T.D. and Liu, N. (2013). *Callus induction and shoot organogenesis from anther cultures of Curcuma attenuate Wall. Plant Cell*, *Tissue* and *Organ Culture*, 112, 1-7.

Mahasarakham University

Larsen, K. and Larsen, S.S. (2006)ี *Gingers of Thailand.* Chiang Mai: Queen Sirikit Botanic Garden, Thailand.

Lo-apirukk, S., Jenjittikul, T., Saralamp, P. and Prathanturarug, S. (2012). Mircropropagation of a Thai medicinal plant for women's health, Curcuma comosa Roxb., via shoot and microrhizome inductions. *Nature Medicine*, 66, 265-270.

Lu, C. (1993). The use of thidiazuron in tissue culture. *Developmental Biology*, 29, 92-96.

Maulidiani, S., Shaari, K., Paetz, C., Stanslas, J., Abas, F. and Lajis, N.H. (2009). Naturally occurring labdane diterpene and benzofuran from Globba pendula. *Natural Product Communications,* 4(8), 1-6.

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

Nayak, S. (2000). In vitro multiplication and microrhizome induction in Curcuma aromatic Salisb. *Plant Growth Regulation*, 32, 41-47.

Parida, R., Mohanty, S., Kuanar, A. and Nayak, S. (2010). Rapid multiplication and in vitro production of leaf biomass in Kaempferia galangal L. through tissue culture. *Journal of Engineering and Biotechnology*, 13(4), 7-14.

Prakash, S., Elangomathavan, R., Seshadri, S., Kathiravan, K. and Ignacimuthu, S. (2004). Efficient regeneration of Curcuma amada Roxb. plantlets from rhizome and leaf sheath explant. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 78, 159-165.

Rahayu, S. and Adil, W.H. (2012). The effect of BAP and Thidiazuron on in vitro growth of java turmeric (Curcuma xanthorrhiza Roxb). *Plant Science*, 7(10), 820-824.

Rahman, M.M., Amin, M.N., Ahamed, T., Ahmad, A., Ahmed, R., Ahmed, M.B. and Ail, M.R. (2004). In vitro rapid propagation of Black Thorn (Kaempferia galangal L.): A rare medicinal and aromatic plant of Bangladesh. *Plant Science*, 5(3), 300-304.

Raihana, R., Faridah ,Q.Z., Julia, A.A., Abdelmageed, A.H.A. and Kadir, M.A. (2011). In vitro culture of Curcuma mangga from rhizome bud. *Journal of Medicinal Plants,* 5(28), 6418-6422.

Rizvi, M.Z., Kukreja, A.K. and Khanuja, S.P.S. (2007). In vitro culture of Chlorophytum borivilianum Sant. Et Fernand. in liquid culture medium as a cost-effective measure. *Journal of Medicinal Plants*, 92, 88-90.

Saensouk, P. (2010). *Plant tissue culture*. Mahasarakham: Department of Biology, Faculty of Science, Mahasarakham University, Thai.

Mahasarakham University

Saensouk, P. (2011). Callus induction and plant regeneration from leaf explants of Cornukaempferia aurantiflora Mood & Larsen. *Pakistan Journal of Botany*, 43(5), 2415-2418.

Salvi, N.D., George, L. and Eapen, S. (2001). Plant regeneration from leaf base callus of Turmeric and random amplified polymorphic DNA analysis of regenerated plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 66, 113-119.

Srirat, P., Sirisansaneeyakul ,S., Parakulsuksatid, P., Prammanee, S. and Vanichsriratana, W. (2008). In vitro propagation of Curcuma longa L. from rhizome bud explant. *Proceedihgs of the 3rd international conference on fermentation technology for value added agricultural products*, 4, 1-5.

Swapna, T.S., Binitha, M. and Manju, T.S. (2003). In vitro multiplication in Kaempferia galanga L. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 118, 233-241.

Theanphong, O., Songsak, T, and Kirdmanee, C. (2010). Effect of plant growth regulators on micropropagation of Curcuma aeruginosa Roxb. *Thai Journal of Botany*, 2(Special Issue), 135-142.

Yunus, M.F., Aziz, M.A., Kadir, M.A. and Rashid, A.A. (2012). In vitro propagation of Etlingera elatior (Jack) (torch ginger). *Scientia Horticulturae*, 130, 145-150.

Yusuf, N.A., Annuar, M.M.S. and Khalid, N. (2011). Rapid micropropagation of Boesenbergia rotunda L. manst. Kulturpfl. (a valuable medicinal plant) from shoot bud explants. *Journal of Engineering and Biotechnology*, 10(7), 1194-1199.

Zhang, S., Liu, N., Sheng, A., Ma, G. and Wu, G. (2011). Direct and callus-mediated regeneration of Curcuma soloensis Valeton (Zingiberaceae) and ex vitro performance of regenerated plants. *Scientia Horticulturae,* 130, 899-905.

Mahasarakham University

ประวัติย่อผู้วิจัย

Mahasarakham University

ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ นามสกุล	นางสาวภัทราพร พิมพ์หมื่น
วัน เดือน ปีเกิด	วันที่ 10 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2532
จังหวัด และประเทศที่เกิด	จังหวัดศรีสะเกษ ประเทศไทย
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2546 มัธยมศึกษาปีที่ 3 โรงเรียนสตรีสิริเกศ อำเภอเมือง จังหวัดศรีสะเกษ
	พ.ศ. 2549 มัธยมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนสตรีสิริเกศ อำเภอเมือง จังหวัดศรีสะเกษ
	พ.ศ. 2553 ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาชีววิทยา มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
	พ.ศ. 2557 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.) สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
ตำแหน่ง สถานที่ทำงาน	-
ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้	บ้านเลขที่ 66/25 หมู่ 6 ตำบลห้วยทับทัน อำเภอห้วยทับทัน จังหวัดศรีสะเกษ 33210

รางวัลเรียนดี ทุนวิจัย และทุนการศึกษา

ในระหว่างศึกษา ได้รับทุนการสนับสนุนการวิจัยงบประมาณรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2557 มหาวิทยาลัยมหาสารคาม และได้รับทุนการศึกษาจากคุณเนตรชนก ทังสุพานิช

ผลงานวิจัย

ภัทราพร พิมพ์หมื่น ปิยะพร แสนสุข และสุรพล แสนสุข. (2557). การขยายพันธุ์กระทือ (*Globba marantina* L.) ในหลอดทดลอง. *วารสารวิจัย มข.*, 19(4), 596-605.

Mahasarakham University