บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ไฮเดรนเยีย (Hydrangea macrophylla Thunb.) เป็นไม้พุ่มชนิดหนึ่ง จัดอยู่ในตระกูล Saxifragaceae มีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออก เอเชียกลาง อเมริกาเหนือและอเมริกาใต้ (ปิฏฐะ 2525) นิยมปลูกเป็นไม้กระถาง และปลูกประดับสถานที่ สำหรับในต่างประเทศนิยมปลูกจำหน่ายในเทศกาลอีสเตอร์ (Easter) และวันแม่ (Mother's Day) (สมเพียร 2525)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ทั่วไป

ไฮเดรนเยียเป็นไม้พุ่มผลัดใบ (deciduous shrub) มีลักษณะทั่วไปดังนี้

ใบ เป็นแบบ oval มีสีเขียวเข้ม ใบออกตรงกันข้ามเป็นคู่ (opposite) ตามข้อต้น ขอบใบจัก ใบยาวประมาณ 8-10 ซม (เซนติเมตร) (วิชัย 2520)

ดอก ออกเป็นช่อแบบ head ในแต่ละช่อประกอบด้วยดอกเล็ก ๆ หลายดอก ดอกเหล่านี้ส่วนมากเป็นหมัน (sterile flower) (สมเพียร 2525) ส่วนใหญ่มีสีชมพู น้ำเงิน มีบางพันธุ์ที่มีสีขาว (Weiler, 1980)

การขยายพันธุ์

การขยายพันธุ์ตามปกติใช้วิธีการตัดชำโดยใช้ส่วนต่าง ๆ ปักชำ (สมเพียร 2525) คือ

1. การตัดชำปลายยอด (terminal cutting)
2. การตัดชำกิ่งให้มีตาติดไป 2 ตา (two eye stub cutting)
3. การชำข้อให้มีใบและตาติดไปด้วย (leaf bud cutting)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การขยายพันธุ์ไฮเดรนเยียในสภาพปลอดเชื้อมีการตีพิมพ์น้อยมาก รายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนใหญ่เป็นผลการทดลองที่เกี่ยวกับไม้ดอกชนิดอื่น ๆ โดยขยายพันธุ์จากเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ตา ปลายยอด ก้านใบ ใบ ดอก เกสรตัวผู้ รังไข่ มีการใช้เทคนิคส่วนประกอบของอาหารและสภาพแวดล้อม ที่แตกต่างกันไปตามชนิดของพืช ดังรายงานที่เกี่ยวข้องตามชนิดพืชดังนี้

แอฟริกันไวโอเล็ต (African violet)

Cooke (1977) ได้ทำการขยายพันธุ์ แอฟริกันไวโอเล็ต โดยเลี้ยงใบขนาด 10x10 มม (มิลลิเมตร) บนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) + NaH_2PO_4 .H_2O + inositol ที่มีความเข้มข้น 170 และ 100 มก/ล (มิลลิกรัม/ลิตร) ตามลำดับ + thiamine . HCl + niacin + pyridoxine.HCl อย่างละ 0.4 มก/ล + IAA (indole acetic acid) 2 มก/ล และ BA(benzyl adenine) 0.08 มก/ล ผสมในวุ้น 9,000 มก/ล และน้ำตาล 30,000 มก/ล โดยเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 27 °ซ (องศาเซลเซียส) ความเข้มแสง 1 กิโล-ลักซ์ พบว่าเกิดยอดขึ้นหลังจากเลี้ยง 30 วัน และเกิดยอดจำนวนมาก (multiple shoot) หลังจากเลี้ยง 60 วัน และในอาหารชนิดเดียวกัน ที่ไม่มี IAA และ BA โดยเลี้ยงไว้ที่มีความเข้มแสง 10 กิโลลักซ์ นาน 16 ชม (ชั่วโมง) ทำให้เกิดราก

ในปีเดียวกันนี้ Grunewaldt (1977) ได้รายงานการขยายพันธุ์โดยการเลี้ยงก้านใบ (petiole) ของแอฟริกันไวโอเล็ต บนอาหารสูตร LS (Linsmaier and Skoog) ที่มี IAA 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) และ NAA (α- naphthaleneacetic acid) ความเข้มข้น 0.2, 0.1 และ 0.4 มก/ล ตามลำดับ พบว่า ส่วนของก้านใบเกิดแคลลัส 100% และแคลลัสประมาณครึ่งหนึ่งเกิดต้นที่ไม่มีราก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Vazquez and Short(1979) ได้ทำการเลี้ยงส่วนต่างๆ ของดอกแอฟริกันไวโอเล็ต พันธุ์ Blue Rhapsody บนอาหารสูตร MS ที่มี NAA และ BAP (benzyl aminopurine) ความเข้มข้น 2 และ 0.2 มก/ล ตามลำดับ พบว่าเกิดแคลลัส และเมื่อเลี้ยงไว้ในสภาพที่มีแสง แคลลัสนั้นจะเกิดยอดและรากจำนวนมาก ส่วนการเลี้ยงรังไข่ กลีบเลี้ยง และกลีบดอก บนอาหารสูตร MS ที่มี BAPและ NAA อย่างละ 1 มก/ล จะเกิดยอด (adventitious shoot bud) จำนวนมาก โดยไม่เกิดแคลลัส และการเลี้ยงส่วนของดอกบนอาหารสูตร MS + kinetin (6-furfuryl aminopurine) และ NAA 1 และ 0.5 มก/ล ตามลำดับ ทำให้เกิดราก จำนวนมาก

ในปีถัดมา Flores et al (1979) ได้นำเอาส่วนของก้านใบ และแผ่นใบ (leaf disc) มาเลี้ยงบนอาหารสูตร Gamborg's B_5 ที่มี NAA และ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ไม่มีผลต่อชิ้นส่วนที่เลี้ยงทั้งสองชนิด และในอาหารชนิดเดียวกันที่มี NAA 10^{-6} โมลาร์ ทำให้เกิดตาภายหลังการเลี้ยง 3-4 สัปดาห์ อาหารที่มี BA 10^{-6}โมลาร์ ทำให้จำนวนตาที่เกิดจาก thin layer เพิ่มขึ้น และนอกจากนี้ ยังชักนำให้ก้านใบและแผ่นใบเกิดแคลลัส สำหรับอาหารที่ชักนำให้เกิดรากคือ อาหารสูตร B_5 + NAA 10^{-7}โมลาร์

ในปี 1981 Jacob et al รายงานว่า เมื่อนำส่วนของใบแอฟริกันไวโอเล็ต พันธุ์ Blue Moon ขนาด 1 ตรซม (ตารางเซนติเมตร) มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีการเพิ่ม BA และ NAA อย่างละ 1 มก/ล พบว่าจะเกิดตาใบ (vegetative bud) ขึ้นได้

Bilkey and Cocking (1982) ได้นำ epidermal tissue และ subepidermal tissue ของก้านใบของ แอฟริกันไวโอเล็ต พันธุ์ Georgia มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS หรืออาหารสูตร B_5 ซึ่งในอาหารทั้งสองชนิดดังกล่าว มี NAA และ BA ความเข้มข้น 0.1 และ 0.5 มก/ล ตามลำดับ + น้ำตาล และ วุ้น 2 และ 0.6% ตามลำดับ โดยเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 22 $\pm$ 2°ซ ความเข้มแสง 2 กิโลลักซ์ นาน 18 ชม พบว่าเมื่อเลี้ยงชิ้นเนื้อเยื่อทั้งสองชนิดบนอาหารสูตร MS จะเกิดแคลลัสขึ้น และจะเกิดยอดขึ้นบนชิ้นเนื้อเยื่อที่มี epidermis เท่านั้น ส่วนการเลี้ยงบนอาหารสูตร B_5 จะเกิดยอดขึ้นบนเนื้อเยื่อทั้งสองชนิดและเมื่อย้ายต้นออกปลูกจนออกดอก พบว่าต้นที่ได้จากการเลี้ยง subepidermal tissue ของก้านใบ มีการเจริญเติบโตน้ำหนักสด เส้นผ่าศูนย์กลางทรงพุ่ม จำนวนใบ ความยาวของก้านใบมากกว่าต้นที่ได้จากการเลี้ยง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

epidermal tissue แต่ขนาดดอกและคุณภาพของดอกนั้นไม่แตกต่างกัน

Cachita-Cosma and Lazar (1983) พบว่าเมื่อเลี้ยงตา (bud) ของ แอฟริกันไวโอเล็ต บนอาหารสูตร MS ดัดแปลงจะเกิด 40 ตา/ชิ้นส่วนที่เลี้ยง หลังจากเลี้ยง 60 วัน และพบว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงมีการเจริญดีที่สุด เมื่อย้ายไปเลี้ยงบนอาหารที่มี NAA 1 มก/ล และ BA 5 มก/ล

ในปีเดียวกัน Smith and Norris (1983) ได้ทำการเลี้ยงส่วนใบของแอฟริกัน-ไวโอเล็ต พันธุ์ Marge Winter, Bold Dance, และ Calico Kitten ซึ่งทั้งสามพันธุ์เป็นพันธุ์ที่มีใบด่าง บนอาหารสูตร Huang and Murashige (1976) ซึ่งประกอบด้วยเกลือแร่ตามสูตรของ MS + myo-inositol + thiamine . HCl และ NaH_2PO_4 . H_2O ที่ความเข้มข้น 100, 0.4 และ 170 มก/ล ตามลำดับ + IAA และ kinetin อย่างละ 2 มก/ล + adenine sulphate . $2H_2O$ 80 มก/ล + น้ำตาล และวุ้น 3 และ 0.6 % ตามลำดับพบว่าเกิดตา (adventitious bud) โดยตรงจากส่วนของใบ โดยที่ต้นที่ได้ยังคงลักษณะเดิมไว้คือใบด่าง

Cassells and Plunkett (1984) ได้นำแผ่นใบที่เจริญเต็มที่และใบอ่อนที่ปลอดเชื้อ (young axenic leaves) ของแอฟริกันไวโอเล็ต มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี NAA และ kinetin ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน + น้ำตาล และวุ้น 30 และ 6 ก/ล (กรัม/ลิตร) ตามลำดับ โดยเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 22 °ซ ความเข้มแสง 5 วัตต์/ตรม (ตารางเมตร) นาน 16 ชม พบว่าเกิดตาจากชิ้นส่วนที่เลี้ยงโดยตรงจำนวนมาก บนอาหารที่มี NAA และ BAP อย่างละ 1 มก/ล จากชิ้นส่วนที่เลี้ยงทั้งสองชนิด และไม่พบความแตกต่างทางคุณภาพ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ได้จากการตัดชำใบ และต้นที่ได้จากการเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อดังกล่าว นอกจากนี้ยังพบว่าต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จะมีความสม่ำเสมอและมีลักษณะใบซ้อนกัน (rosette) มากกว่าต้นที่ได้จากการตัดชำใบ ต้นที่ได้จากการตัดชำมีเปอร์เซนต์การอยู่รอดสูงที่สุด รองลงมาคือต้นที่ได้จากการเลี้ยงใบอ่อนที่ปลอดเชื้อ และใบที่เจริญเต็มที่ตามลำดับ ส่วนเส้นผ่าศูนย์กลางของทรงพุ่ม รูปร่างของใบ จำนวนต้นที่ออกดอก จำนวนของก้านดอกนั้น ไม่มีความแตกต่างกัน นอกจากนี้ต้นที่ได้จากการตัดชำใบ มีจำนวนใบและพื้นที่ใบต่อต้นและความยาวของก้านใบน้อยกว่าต้นที่ได้จากการเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในปี 1989 Ioannou ได้ขยายพันธุ์แอฟริกันไวโอเล็ต โดยใช้ก้านใบและแผ่นใบมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง พบว่า เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS + adenine sulphate + BA และ NAA 30, 0.4 และ 0.1 มก/ล ตามลำดับ จะเกิดยอดดีที่สุดบนชิ้นส่วนที่เลี้ยงทั้งสองชนิด และการเลี้ยงบนอาหารที่มี BA และ adenine sulphate 0.4 และ 30 มก/ล ตามลำดับ พบว่ามีการเพิ่มจำนวน (proliferation) ดีที่สุด ซึ่งการขยายพันธุ์ด้วยวิธีนี้จะได้ต้นมากกว่า 500 ต้น จากการเลี้ยงก้านใบหรือแผ่นใบ 1 อัน ในระยะเวลา 7 เดือน นอกจากนี้เขายังรายงานว่าก้านใบมีแนวโน้มเกิดความเสียหายจากการฆ่าเชื้อน้อยกว่าแผ่นใบ

Chen et al (1989) พบว่า แคลลัสที่เกิดจากก้านใบ (leaf stalk) ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี kinetin 0.5-2 มก/ล และ NAA 0.1-0.5 มก/ล เกิดต้นสมบูรณ์ ส่วนการเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA 0.5-2.0 มก/ล และ NAA 0.1-0.5 มก/ล จะเกิดตาขนาดเล็กขึ้น และเมื่อย้ายไปเลี้ยงบนอาหารสูตรเดียวกันที่มี kinetin 0.05-0.2 มก/ล และ NAA 0.05-0.2 มก/ล ทำให้ต้นออกราก

กล๊อกซิเนีย (Gloxinia)

ในปี 1976 Bigot ได้ทดลองเลี้ยงลำต้น ใบ ก้านใบ ก้านดอก ฐานรองดอก และส่วนของดอกของกล๊อกซิเนีย พบว่าการเลี้ยงก้านดอกบนอาหารที่มี BAP 1 หรือ 2 มก/ล และ NAA 0.2-1 มก/ล ได้ผลดีที่สุด ทำให้เกิดตาจำนวนมาก ซึ่งตาเหล่านี้เกิดรากง่ายในสภาพปลอดเชื้อเมื่อใช้ IAA 0.5 มก/ล และ BAP 50 ไมโครกรัม/ล

Johnson (1978) รายงานการขยายพันธุ์กล๊อกซิเนีย (Sinningia speciosa Lodd.) พันธุ์ Etoile de Feu โดยใช้ใบขนาด 1 ตรซม มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี kinetin ความเข้มข้น 0.3 และ 0.7 มก/ล และ IAA 1.6-1.8 มก/ล ภายใต้ความเข้มแสง 3 กิโลลักซ์ เป็นเวลา 16 ชม พบว่าเกิดยอดตรงรอยตัดบริเวณเส้นใบ และเมื่อยอดสูงประมาณ 1 ซม จะย้ายไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี kinetin และ IAA ความเข้มข้นอย่างละ 0.2 มก/ล เพื่อทำให้ออกราก การขยายพันธุ์ด้วยวิธีนี้ ทำให้ได้ต้นกล๊อกซิเนียจำนวนมาก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยที่ใบ 1 ใบ จะได้ชิ้นส่วนที่เลี้ยงประมาณ 100 ชิ้น ชิ้นส่วนที่เลี้ยง 1 ชิ้น เกิดต้น 1-10 ต้น ซึ่งมีการรอดตายมากกว่า 90% และต้นที่ได้มีลักษณะเหมือนพันธุ์แม่เกือบทั้งหมด มีเพียงส่วนน้อยเท่านั้นที่แปรปรวนไป ในเรื่องสีของใบคือขอบใบมีสีอ่อน

คริสต์มาส (Poinsettia)

Nataraja et al (1974) ได้เพาะเมล็ดที่ไม่มีเปลือกหุ้มของคริสต์มาส (Euphorbia pulcherrima) บนอาหารสูตร White ดัดแปลง พบว่า เมล็ดมีเปอร์เซนต์การงอกร้อยละ 90 และได้ต้นกล้าที่เจริญเป็นปกติ การเพิ่มน้ำมะพร้าว 10% ลงไปในอาหารทำให้ต้นกล้ามีความแข็งแรงมากขึ้น ส่วนการเพิ่ม kinetin IAA GA (gibberellic acid) หรือ 2,4-D อย่างละ 1 สตล (ส่วนต่อล้าน) พบว่าการงอกลดลงและจะเกิดแคลลัสขึ้น

ฟูเซีย (Fuchsia)

ในปี 1981 Stevenson and Harris ได้เลี้ยงปลายยอด ก้านใบ ใบ และรากของฟูเซีย (Fuchsia hybrida) พันธุ์ Swingtime บนอาหารวุ้นสูตร B_5 เป็นเวลา 2 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตรเดียวกัน ซึ่งมีสารควบคุมการเจริญต่างกัน พบว่า ปลายยอดเท่านั้นที่มีการอยู่รอดและเจริญ นอกจากนี้เขายังพบว่า การนำปลายยอดที่ยังไม่เกิดดอกมาเลี้ยง ประสบผลสำเร็จมากกว่า การเลี้ยงปลายยอดที่เกิดตาดอกหรือดอกแล้ว

Kevers et al (1983) รายงานว่าตาข้างของฟูเซีย มีการพัฒนาอย่างรวดเร็ว เมื่อเลี้ยงปลายยอดและข้อบนอาหารสูตร MS ที่มี BAP และ NAA 1 และ 0.1 มก/ล ตามลำดับ โดยเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 24 °ซ ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชม/วัน และเมื่อย้ายยอดที่มีความสูง 1 ซม ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี IBA 1 มก/ล จะออกรากภายใน 20 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

บีโกเนีย (Begonia)

Mikkelsen and Sink(1978) ได้เลี้ยงแผ่นใบของ Begonia x hiemalis พันธุ์ Schwabenland Red บนอาหารที่มีเกลือแร่ตามสูตรของ MS วิตามินของ Nitsch + NAA และ BA 0.1 และ 1 สตล ตามลำดับ ภายใต้ความเข้มแสง 1 กิโลลักซ์ พบว่าเกิดยอดจำนวนมาก และยอดเหล่านี้จะเกิดรากภายใน 2 สัปดาห์ บนอาหารที่มี NAA 0.1 สตล ภายใต้ความเข้มแสง 4.5 กิโลลักซ์ ซึ่งการขยายพันธุ์ด้วยวิธีนี้จาก 1 ก้านใบ จะเกิดต้นที่มีราก 100 ต้น ภายในเวลา 10 สัปดาห์

ในปี 1982 Bigot ได้ทดลองขยายพันธุ์บีโกเนีย โดยใช้ใบ ก้านใบ ลำต้น และช่อดอก มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี NAA 0.1-0.5 มก/ล และ 2iP (isopentenyl adenine) 1-3 มก/ล พบว่าเกิดตาขึ้นจากชิ้นส่วนที่เลี้ยงดังกล่าวข้างต้น ถ้าต้องการให้เกิดราก ก็ย้ายไปเลี้ยงบนอาหารสูตรเดียวกัน ที่มี activated charcoal 2 ก/ล +2iP 0.5 มก และ IBA 0.2 มก หรือ IAA 2 มก/ล

Peck and Cumming (1984) ขยายพันธุ์บีโกเนีย โดยใช้ส่วนของใบ ที่มีเส้นใบขนาดใหญ่อยู่ โดยตัดให้มีขนาด 2 ซม มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง สูตร MS ร่วมกับวิตามิน น้ำตาลซูโครส NAA และ BA ความเข้มข้น 1.0 และ 5.0 มก/ล ตามลำดับ พบว่า เมื่อเลี้ยงในที่ที่มีอุณหภูมิ 20 °ซ ให้แสงนาน 16 ชม จะเกิดตาต้นขึ้นได้ใน 8-10 สัปดาห์ และถ้าต้องการให้เกิดต้นก็ย้ายลงในอาหารเหลวที่ลดปริมาณ BA ลงเหลือ 1 มก/ล การชักนำให้เกิดรากเพื่อนำไปปลูกทำได้โดยเลี้ยงต้นที่ได้ ในอาหารเหลวที่มี IBA 2 มก/ล เป็นเวลา 10 วัน

Li (1985) รายงานว่าเขาสามารถกระตุ้นให้เกิดแคลลัส เมื่อเลี้ยงส่วนใบของ Begonia feasti ภายในเวลารวดเร็วเพียง 2 สัปดาห์เท่านั้น โดยใช้อาหารสูตร MS ที่มี NAA 0.2 มก/ล และ BA 2 มก/ล และหลังจากนั้น 2 เดือน จะเกิดต้นอ่อนขึ้นได้ ยิ่งกว่านั้น ถ้าเลี้ยงชิ้นส่วนบนอาหารสูตร MS ที่มี phloridzin 1-7 มก/ล จะเกิดแคลลัสจำนวนมาก ภายในเวลา 5-6 วันเท่านั้น และภายใน 30 วันจะมีการสร้างตาขึ้น ซึ่งจะใช้เวลาอีก 60 วัน ก็จะเกิดเป็นต้นเล็กขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โรโดเดนดรอน (Rhododendron)

Meyer (1981) ได้เลี้ยงตาดอกของ Rhododendron catawbiense พันธุ์ Roseum Elegans, Nova Zembla และ R. hybrids พันธุ์ Sefton บนอาหารสูตร Anderson ที่มี IAA 1-4 มก/ล และ 2ip 5-15 มก/ล พบว่าเกิดกลุ่มเนื้อเยื่อเป็นเม็ดเล็กสีเขียวที่ฐานของกลีบดอก ซึ่งเมื่อย้ายกลุ่มเนื้อเยื่อเหล่านี้ไปเลี้ยงบนอาหารใหม่จะเกิดยอดจำนวนมาก สำหรับอาหารที่ทำให้เกิดราก คือ อาหารสูตร Anderson ที่มี activated charcoal 1 ก/ล

ในปี 1984 Douglas ได้ขยายโรโดเดนดรอน พันธุ์ Pink Pearl, Nova Zembla, Gomer Waterer, Hugo Koster, Britannia, America, Wilgens Ruby และ Doncaster โดยใช้ตาที่กำลังขยายขนาด มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS วิตามินสูตร Gamborg's B_5 (1968) ซึ่งเลี้ยงทั้งอาหารวุ้นและอาหารเหลว โดยเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 22 $\pm$ 1 °ซ ความเข้มแสง 12.3 และ 8.2 วัตต์/ตรม สำหรับอาหารวุ้นและอาหารเหลว ตามลำดับ ส่วนการชักนำให้ออกรากนั้นให้แสง 2 วัตต์/ตรม พบว่าทุกพันธุ์เกิดยอด ยกเว้นพันธุ์ Doncaster ยอดที่เกิดบนอาหารวุ้นจะแตกต่างกันไปในแต่ละพันธุ์ สำหรับพันธุ์ Pink Pearl การเกิดยอดในอาหารเหลวมีมากกว่าบนอาหารวุ้น 10 เท่า ยอดเกิดรากอย่างรวดเร็ว ทั้งในสภาพปลอดเชื้อ และในสภาพธรรมชาติ การย้ายยอดที่ไม่มีรากไปปลูกในพีท (peat) จะเกิดราก 50-70% หลังการย้ายปลูก 5 สัปดาห์ การเกิดรากจะเพิ่มขึ้นเป็น 80-90% เมื่อนำยอดไปเลี้ยงบนอาหารที่มี IBA (indole-butyric acid) 5-15 มก/ล เป็นเวลาอย่างน้อย 10 วัน

Harbage and Stimart (1987) ได้เลี้ยงชิ้นส่วนของลำต้นของ Rhododendron x Gibraltar และ R. x Old Gold บนอาหารสูตร Anderson ที่ใช้เลี้ยงโรโดเดนดรอน โดยใช้ 2,4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า อาหารที่มี 2,4-D 0.018 ม.โมลาร์ (มิลลิโมลาร์) แคลลัสเจริญดีที่สุด หลังจากย้ายแคลลัสไปเลี้ยงบนอาหารใหม่ที่มี zeatin ความเข้มข้นต่าง ๆ 2 ครั้ง พบว่าจะเกิดยอดจากแคลลัส บนอาหารที่มี zeatin 0.034 และ 0.068 ม.โมลาร์ สำหรับพันธุ์ R. x Gibraltar และ R. x Old Gold ตามลำดับ หลังจากนั้น 17 สัปดาห์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(ย้ายไปเลี้ยงบนอาหารใหม่ 5 ครั้ง) แคลลัสของโรโดเดนดรอน ทั้ง 2 พันธุ์ ที่มีน้ำหนัก 70-75 มก จะเกิดยอดประมาณ 20 ยอด นอกจากนี้เขายังรายงานว่า การย้ายแคลลัสไปเลี้ยงบนอาหารใหม่เป็นเวลานาน จะทำให้การเกิดยอดจากแคลลัสลดลง

Dai et al (1987) รายงานว่า การเลี้ยงรังไข่จากตาดอกที่พักตัว (dormant flower bud) ของ Rhododendron prinophyllum (Small) Millais บนอาหารสูตร Anderson ที่มี IAA และ 2ip ความเข้มข้น 4 และ 15 มก/ล ตามลำดับ โดยเลี้ยงไว้ที่มืดเป็นเวลา 1 เดือน จากนั้นให้แสงความเข้ม 35-50 ไมโครโมล/วินาที/ตรม จะเกิดยอด 20-50 ยอด/รังไข่ จากผนังรังไข่ และแคลลัส หลังจากย้ายไปเลี้ยงบนอาหารสูตร Economou and Read 3 ครั้ง จะเกิดยอด 100 ยอด/รังไข่ และเมื่อยอดมีความสูง 1-2 ซม จะออกรากเมื่อย้ายไปเลี้ยงบนอาหารสูตร Economou and Read ที่ลดความเข้มข้นลง 1/2 เท่า ของปกติที่ใช้ + IAA หรือ IBA 1 หรือ 4 มก/ล โดยออกราก 90% ในเวลา 1-2 เดือน และต้นที่ออกรากเมื่อย้ายปลูก มีอัตราการรอด 100%

เจอราเนียม (Geranium)

ในปี 1969 Pillai and Hildebrandt รายงานว่า แคลลัสเจอราเนียมที่เกิดจากการเลี้ยงปลายยอด (stem tip) เนื้อเยื่อลำต้นที่มีเนื้อเยื่อท่อน้ำท่ออาหาร บนอาหารสังเคราะห์ ที่มีหรือไม่มีน้ำมะพร้าว + 2,4-D มีการเจริญดีเป็นเวลาหลายชั่ว (generation) และเมื่อนำแคลลัสที่เกิดขึ้นเหล่านี้ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี NAA และ kinetin 0.1 และ 10 มก/ล ตามลำดับ ให้ได้รับแสง 16 ชม พบว่าเกิดยอดภายใน 8-10 สัปดาห์ และเกิดรากภายใน 8-10 สัปดาห์ต่อมา และการย้ายแคลลัสที่เกิดบนอาหารสูตร MS ที่มี NAA และ kinetin ความเข้มข้นดังกล่าว ไปเลี้ยงบนอาหารชนิดเดียวกันนี้จะเกิดยอดภายใน 6-8 สัปดาห์ นอกจากนี้การย้ายแคลลัสไปเลี้ยงบนอาหารใหม่มากกว่า 3 ครั้ง พบว่าเกิดยากขึ้น และจะไม่เกิดยอดเลยหลังจากย้ายไปเลี้ยงบนอาหารใหม่ครั้งที่ 6

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

El-Nil and Hildebrandt (1972) ได้เลี้ยงเกสรตัวผู้ของเจอราเนียมที่มีละอองเกสรตัวผู้ที่ยังไม่เจริญเต็มที่จำนวนมาก บนอาหารวุ้นสูตร White ดัดแปลง ที่มีน้ำมะพร้าว 150 มล/ล (มิลลิลิตร/ลิตร) + NAA 2-2.5 มก/ล และ kinetin 2.5 มก/ล โดยเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28 °ซ เป็นเวลา 1 เดือน ในสภาพวันยาว พบว่า เกสรตัวผู้พัฒนาเป็นแคลลัสแตกต่างกันไปตามพันธุ์ ซึ่งอยู่ระหว่าง 10-62% และแคลลัสจะเริ่มเจริญเมื่อย้ายไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่มี NAA และ kinetin 0.5 และ 2.5 มก/ล ตามลำดับ หลังจากนั้น 1-3 เดือน สามารถทำให้ออกรากได้ เมื่อย้ายยอดที่พัฒนาไปเลี้ยงบนอาหารสูตร White

ในปีเดียวกัน Abo El-Nil and Hildebrandt (1972) รายงานว่าสามารถเลี้ยงเกสรตัวผู้ของเจอราเนียมที่อยู่ในระยะ third-floral-bud ให้เกิดแคลลัสได้ บนอาหารสูตร White ดัดแปลง + น้ำมะพร้าว 150 มก/ล + NAA 2-2.5 มก/ล + kinetin 2.5 มก/ล โดยเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 28 $\pm$ 2 °ซ ภายใต้แสง 16 ชม การพัฒนาแคลลัสจะแตกต่างกันตามพันธุ์ และเมื่อย้ายแคลลัสไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง + kinetin และ NAA 2.5 และ 0.5 มก/ล ตามลำดับ จะเกิด embryoid ที่มีสีเขียวจำนวนมาก ภายในเวลา 1 เดือน และในระยะเวลา 2 เดือนต่อมา สามารถย้ายยอดซึ่งพัฒนาจาก embryoid ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร White เพื่อชักนำให้ออกรากได้

Graifenberg and Giustiniani (1979) ขยายพันธุ์ Pelargonium zonale พันธุ์ Dark Red Irene P. peltatum พันธุ์ Iris Bader และ P. zonale x P. peltatum พันธุ์ Bell de Grange โดยใช้ปลายยอด พบว่า อาหารสูตร MS ที่มี IAA และ kinetin อย่างละ 1 มก/ล ทำให้การเจริญของยอดและแคลลัสดีที่สุด

Hammerschlag and Bottino (1981) ได้ทำการเลี้ยงแคลลัสที่เกิดจากการเลี้ยงลำต้นที่มีอายุ 2 สัปดาห์ 2 เดือน และ 2 ปี ของ Pelargonium x hortorum Bailey พันธุ์ Sprinter บนอาหารสูตร LS ดัดแปลงที่มี folic acid 0.5 มก/ล หรือ p-amino benzoic acid 0.1 มก/ล + NAA และ kinetin ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 26-28 °ซ ความเข้มแสง 3-4 กิโลลักซ์ นาน 16 ชม พบว่าแคลลัสที่เกิดจากการเลี้ยงลำต้นที่มีอายุ 2 สัปดาห์เท่านั้น ที่เกิดยอดและราก เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี NAA 0.2 มก/ล และ kinetin 2.0

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

มก/ล และนอกจากนี้เขายังได้เลี้ยงเกสรตัวผู้จากดอกของต้นที่มีอายุ 2 เดือน และ 2 ปี บนอาหารสูตร Abo El-Nil and Hildebrandt ดัดแปลง ที่ไม่มี glycine มี p-amino benzoic acid 0.1 มก/ล + NAA และ kinetin อย่างละ 2 มก/ล พบว่าเกสรตัวผู้จากดอกของต้นที่มีอายุ 2 เดือน จะเกิดแคลลัส 11.2% ส่วนเกสรตัวผู้จากดอกของต้นที่มีอายุ 2 ปี จะเกิดแคลลัสเพียง 2% เท่านั้น

Welander (1983) พบว่าแคลลัสเกิดขึ้นเมื่อเลี้ยงปลายยอดของ Pelargonium zonale บนอาหารที่มี kinetin ความเข้มข้นต่ำ (0.04 มก/ล) และ IAA ความเข้มข้นสูง (10 มก/ล) และเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี kinetin 2 มก/ล แต่ไม่มี IAA นั้น แคลลัสเกิดน้อย จำนวนยอดต่อหน่วยเติบโต (meristem) ที่เลี้ยง จะเพิ่มขึ้นเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี BA 2 มก/ล นอกจากนี้ยังพบว่า หน่วยเติบโตที่ตัดจากต้นต่อที่เจริญในตู้ควบคุมการเจริญ จะเกิดยอดมากกว่า (46,875 ยอด ภายหลัง 6 เดือน) หน่วยเติบโตจากต้นที่เลี้ยงในโรงเรือนกระจก (15, 625 ยอด) ประมาณ 25% ของต้นสมบูรณ์เท่านั้น ที่รอดตายภายหลังการย้ายปลูกโดยที่ 5 - 30% ของต้นสมบูรณ์ มีลักษณะผิดปกติ และเมื่อตัดชำต้นเหล่านี้ต้นใหม่ที่ได้ในชั่วต่อไปก็จะมีลักษณะผิดปกติด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าต้นที่เกิดจากการเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ เกิดดอกแรกช้ากว่าต้นที่ได้จากการตัดชำ แต่ต้นที่ได้จากการเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อมีตาข้างตาดอกในช่อดอกแรกมากกว่าและยังมีน้ำหนักสดต่อต้นสูงกว่าต้นที่ได้จากการตัดชำ

Stefaniak and Zenkteler (1983) ได้นำก้านดอกของ Pelargonium hortorum และ P. peltatum มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญต่างกัน พบว่าการเจริญของแคลลัสดีที่สุด เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS + NAA และ kinetin 0.1 และ 10 มก/ล ตามลำดับ และยังพบว่า P. peltatum พันธุ์ PAC Dresdner Amerthyst และ P. hortorum clone 3766/4 เกิดแคลลัสดี และจะเกิดเป็นต้น เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่มี BA และ IAA อย่างละ 1 มก/ล

ในปีเดียวกัน Dunbar and Stephens (1989) รายงานว่า การเลี้ยงปลายยอดเจอราเนียมลูกผสมบนอาหารสูตร MS ที่มี zeatin และ IAA 2.0 และ 1.9 มก/ล ตามลำดับ จะเกิดเนื้อเยื่อแคลลัสที่ปกคลุมด้วยปมสีเขียว และยังรายงานว่า ลูกผสมพันธุ์ Red Orbit,

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

White Orbit และ Scarlet Orbit เกิดจุดกำเนิดยอด (shoot primordia) 5-50 จุด กำเนิด/ชิ้นเนื้อเยื่อที่เลี้ยง เมื่อเลี้ยงบนอาหารชนิดเดียวกันนี้ ส่วนการเลี้ยงแคลลัสของ Regal Geranium (Pelargonium x domesticum) พันธุ์ Tiny Tot และ Lavender Grand Slam ที่เกิดขึ้นเมื่อเลี้ยงใบบนอาหารสูตร MS + BAP และ NAA อย่างละ 2 มก/ล จะเกิดจุดกำเนิดยอดระหว่าง 2-50 จุดกำเนิด/ชิ้นเนื้อเยื่อ

เบญจมาศ (Chrysanthemum)

Ben-Jaacov and Langhans (1972) รายงานว่าเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีการเพิ่มปริมาณเบญจมาศได้อย่างรวดเร็ว การตัดปลายยอดมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญที่แตกต่างกัน พบว่าการเจริญของปลายยอดมีการเจริญเป็น 3 ลักษณะ คือ

1. การยืดตัวของปลายยอดที่เกิดยอด 1-2 ยอด
2. การเจริญเป็นแคลลัสที่มีสีขาว
3. การเจริญเป็นแคลลัสที่มีสีเขียวอ่อน มีลักษณะคล้ายใบขนาดเล็ก จำนวนมาก

ซึ่งการเจริญในแบบที่ 3 นี้ เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีน้ำมะพร้าว 10% + inositol + kinetin และ IAA 25,0.8 และ 0.5 สตล ตามลำดับ พบว่าเกิดเป็นต้นสมบูรณ์ขึ้นได้ นอกจากนี้เขายังรายงานว่า การเลี้ยงปลายยอด 1 อัน จะเกิดต้นสมบูรณ์ประมาณ 100,000 ต้น ในระยะเวลาน้อยกว่า 1 ปี

Earle and Langhans (1974a) เลี้ยงปลายยอดเบญจมาศพันธุ์ Giant#4 Indianapolis White บนอาหารสูตร MS + thiamine . HCl + myo-inositol ที่ความเข้มข้น 0.4 และ 100 มก/ล ตามลำดับ + น้ำตาล 30 ก/ล + วุ้น 5 ก/ล และใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตระดับความเข้มข้นต่าง ๆ โดยเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 24 °ซ ความเข้มแสง 1,000-4,000 ลักซ์ พบว่าเกิดยอดจำนวนมาก และเกิดแคลลัสสีเขียวมีลักษณะคล้ายใบเกิดขึ้น (green leafy callus) เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี kinetin 2 มก/ล + NAA 0.02 มก/ล และเมื่อย้ายแคลลัสที่มีสีเขียวคล้ายใบไปเลี้ยงบนอาหารใหม่ จะเกิดเป็นต้นสมบูรณ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Earle and Langhans (1974b) ได้เลี้ยงปลายยอดเบญจมาศ พันธุ์ Giant#4 Indianapolis White ขนาด 0.5 มม ในอาหารเหลวสูตร MS ที่มี kinetin และ NAA 2 และ 0.02 มก/ล ตามลำดับ พบว่าเกิดต้นที่มีลักษณะปกติจำนวนมาก และมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น 2 เท่า ทุก ๆ 3 วัน การเจริญที่เริ่มใหม่หลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4.5 °ซ เป็นเวลาอย่างน้อย 6 เดือน พบว่าจะเกิดต้นสมบูรณ์ภายใน 6-12 สัปดาห์ เมื่อย้ายชิ้นเนื้อเยื่อเล็ก ๆ ไปเลี้ยงบนอาหารวุ้นที่มี kinetin 0.5-2 มก/ล การเพิ่ม GA_3 10 มก/ล จะส่งเสริมการเกิดและการยืดตัวของใบและดอก จากวิธีการดังกล่าวนี้ จะได้ต้นสมบูรณ์ถึง 9 x 10^{14} ต้น ภายในเวลา 1 ปี

ต่อมาในปี 1975 Roest and Bokelmann ได้ศึกษาผลของความยาวของก้านดอกอ่อนที่เลี้ยง ชนิด และความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญ และน้ำตาล เพื่อจะขยายพันธุ์เบญจมาศพันธุ์ Super Yellow และ Bravo บนอาหารสูตร MS โดยตัดก้านดอกเบญจมาศยาว 0.5, 1.0 และ 1.5 ซม มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีน้ำตาล และวุ้น 4 และ 8% ตามลำดับ พันธุ์ Super Yellow จะใช้ BA และ IAA 10^{-6} และ 10^{-8} ก/มล (กรัม/มิลลิลิตร) ตามลำดับ ส่วนพันธุ์ Bravo ใช้ BA และ IAA อย่างละ 10^{-6} ก/ล พบว่า ความยาวของชิ้นส่วนที่เลี้ยงไม่มีผลต่อจำนวนของชิ้นส่วนที่เลี้ยงที่เกิดยอด และจำนวนยอดที่สามารถทำการย้ายได้ของพันธุ์ Super Yellow ไม่ขึ้นอยู่กับความยาวของชิ้นส่วนที่เลี้ยง ส่วนพันธุ์ Bravo นั้น จำนวนยอดที่ย้ายได้จะเพิ่มขึ้นตามความยาวของชิ้นส่วนที่เลี้ยง นอกจากนี้จากการศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญ พบว่า ชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการเกิดยอดของพันธุ์ Super Yellow และ Bravo คือ BA 10^{-6} +IAA 10^{-8} ก/มล และ BA + IAA อย่างละ 10^{-6} ก/มล ตามลำดับ ส่วนความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสมที่ใช้ร่วมกับ BA และ IAA ที่ความเข้มข้นดังกล่าวสำหรับแต่ละพันธุ์คือ 3 และ 5% สำหรับพันธุ์ Super Yellow และ Bravo ตามลำดับ

Wang and Ma (1978) ได้เลี้ยงปลายยอดและช่อดอกอ่อนที่มีขนาดต่าง ๆ ของเบญจมาศพันธุ์ Blue Bird, Montana, Meladion, Delaware และ Christmas Greeting พบว่า ปลายยอดขนาด 0.5-1.5 มม และช่อดอกเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-0.75 มม เกิดยอดจำนวนมากบนอาหารสูตร MS ที่มี inositol + thiamine + tyrosine และ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

adenine sulphate 100, 0.4, 100 และ 160 มก/ล ตามลำดับ + IAA และ kinetin อย่างละ 2 มก/ล ส่วนปลายยอดขนาด 0.2-0.5 มม จะเจริญเป็นต้นสมบูรณ์ที่มีรากบนอาหารชนิดเดียวกันนี้แต่ไม่มี kinetin, adenine sulphate และ tyrosine หน่วยเติบโตปลายยอดขนาด 0.1-0.2 มม ที่ไม่มีจุดกำเนิดใบ เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี inositol 100 มก/ล + thiamine 1 มก/ล + pyridoxine และ nicotianic acid อย่างละ 5 มก/ล + NAA และ kinetin 0.3 และ 0.1 มก/ล ตามลำดับ + adenine sulphate 40 มก/ล และน้ำสกัดจากมอลท์ (malt extract) 400 มก/ล พบว่าจะเกิดแคลลัส และต่อมาจะเกิดยอดเดี่ยวซึ่งจะเกิดขึ้นตรงกลางของเนื้อเยื่อ

ในปี 1981 Lee et al เลี้ยงปลายยอดเบญจมาศ ขนาด 1.0 x 0.5 มม พันธุ์ Shin Dong Ah บนอาหารสูตร MS ที่มี kinetin และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าอาหารที่มี kinetin 0.5 สตล และ NAA 1 สตล ให้แคลลัสมีน้ำหนักสดมากที่สุด และการใช้ NAA ร่วมกับ kinetin นั้น จะทำให้เกิดยอดและรากดีกว่าการใช้เพียงชนิดเดียว

ในปีถัดมา Petru et al (1982) ขยายพันธุ์เบญจมาศชนิดดอกใหญ่ 65 พันธุ์ ได้สำเร็จ โดยเลี้ยงปลายยอดบนอาหารสูตร MS + kinetin + IAA ที่ความเข้มข้น 2.5 และ 4 มก/ล ตามลำดับ

Guan et al (1982) พบว่าเมื่อเลี้ยงฐานรองดอกของเบญจมาศ บนอาหารสูตร MS ที่มี BA 2-16 มก/ล จะเกิดยอดขึ้น และอาหารสูตร MS ที่มี IAA 1 มก/ล หรือ 2,4-D 2 มก/ล ทำให้เกิดราก

Slusarkiewicz-Jarzina et al (1983) เลี้ยงใบเบญจมาศพันธุ์ Bronze Bornholm บนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตความเข้มข้นต่าง ๆ กัน พบว่าอาหารที่มี kinetin + NAA และ para-fluorophenylalanine 4, 2 และ 50 มก/ล ตามลำดับ ทำให้เกิดต้นดีที่สุด

ในปีเดียวกันนี้ Wardle et al (1983) รายงานว่าการเลี้ยงก้านดอกเบญจมาศพันธุ์ Snowdon บนอาหารสูตร MS ที่มี IAA และ BA อย่างละ 1 มก/ล จะเกิดต้นสมบูรณ์ขึ้นได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Dabin et al (1984) ได้เลี้ยงตาข้าง (axillary bud) ของเบญจมาศพันธุ์ White Spider บนอาหารหลายสูตร พบว่าเมื่อเลี้ยงตาข้างเบญจมาศบนอาหารสูตร MS จะเกิดแคลลัสและต่อมาจะเกิดยอดขึ้น ส่วนอาหาร MH (Morel macroelement + Heller micro-element) จะทำให้ตาที่เลี้ยงเกิดยอดโดยตรง และพบว่าความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม คือ kinetin 2.5 x 10^{-6} โมลาร์ + GA 6 x 10^{-6} โมลาร์

Chen et al (1986) ขยายพันธุ์เบญจมาศโดยใช้ใบอ่อนที่เกิดในฤดูใบไม้ผลิมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA และ NAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน พบว่าอาหารที่เหมาะสมสำหรับชักนำให้เกิดตาคืออาหารสูตร MS + BA 3-5 มก/ล และ NAA 2 มก/ล และอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากคือ อาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของเกลือแร่ลงเหลือ 1/4 เท่าของความเข้มข้นปกติที่ใช้ + NAA 0.1 มก/ล นอกจากนี้เขายังได้รายงานว่า การชักนำให้เกิดตานั้นผันแปรตามส่วนของใบคือส่วนปลายใบเกิดตามากที่สุด และส่วนฐานของใบเกิดตาน้อยที่สุดโดยที่การตอบสนองนี้จะผันแปรในระหว่างพันธุ์ด้วย

Donato and Perucco (1986) ขยายพันธุ์เบญจมาศโดยใช้ตาข้าง มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่า ทำให้เกิดยอดซึ่งมี 1.7-3.0 ข้อ ในระยะเวลา 30 วัน และเมื่อนำข้อที่ได้จากการเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อมาเลี้ยงบนอาหารที่มี BA และ NAA 0.05 และ 0.1 สตล ตามลำดับ พบว่า แต่ละข้อจะเกิดยอด 2-8 ยอด ในเวลา 30 วัน และการเลี้ยงยอดบนอาหารที่มี NAA 0.5 สตล ทำให้เกิดรากภายหลัง 30 วัน ซึ่งต้นสมบูรณ์ที่ได้เหล่านี้สามารถย้ายปลูกลงดินหรือใช้สำหรับขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อต่อไปได้

Gertsson and Andersson (1986) ได้ขยายพันธุ์เบญจมาศพันธุ์ Pink Camino, Princess Anne และ Super Yellow Spider โดยใช้หน่วยเติบโตปลายยอดและก้านใบ มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA และ IAA ความเข้มข้น 1.0 และ 0.1 มก/ล ตามลำดับ พบว่าเกิดยอดมากทุกพันธุ์ ยกเว้นพันธุ์ Princess Anne ที่ขยายพันธุ์โดยใช้ก้านใบ ไม่พบการเกิดยอด

Ahmed (1988) ขยายพันธุ์เบญจมาศพันธุ์ Winter Westland, Yellow Westland, Dark Westland, Snowdon, Yellow Snowdon, Altis และ Blanche โดยใช้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ปลายยอดพบว่าอาหารสูตร MS + BA + NAA อย่างละ 1 มก/ล ทำให้อัตราการขยายพันธุ์และการเจริญเติบโตดีที่สุด และเมื่อเลี้ยงยอดบนอาหารสูตร MS ที่มี NAA 0.1 มก/ล หรือไม่มี NAA จะออกราก 50%

ในปีเดียวกัน Sangwan et al (1988) รายงานว่าในการทดสอบผลของอ๊อกซินร่วมกับไซโตไคนินกับเบญจมาศนั้น ส่วนใหญ่เกิดยอดเดี่ยว ๆ แต่อย่างไรก็ตามในงานทดลองของเขาพบว่าอาหารที่มี NAA 0.2 มก/ล และ kinetin 2 มก/ล + GA_3 0.2 มก/ล หรือไม่มี GA_3 นั้น ทำให้เบญจมาศเกิดยอดจำนวนมาก ซึ่งสามารถชักนำให้เกิรากได้ในอาหารสูตร MS + IAA 0.1 มก/ล และน้ำตาล 1%

Prasad and Chaturvedi (1988) ได้เลี้ยงปลายยอดเบญจมาศ พันธุ์ Birbal Sahni ในเดือนมีนาคม-เมษายน พบว่าไม่เกิดแคลลัส ขณะที่ชิ้นส่วนที่เลี้ยงซึ่งนำมาจากช่วงเวลาอื่น ๆ โดยทั่วไปจะเกิดแคลลัส แต่เมื่อนำปลายยอด ใบ ส่วนของลำต้น และรากที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA และ NAA 1.5 และ 0.1 มก/ล ตามลำดับ จะเกิดยอดมากที่สุดคือ 9 ยอด

คาร์เนชั่น (Carnation)

ในปี 1972 Engvild ได้เลี้ยงแคลลัสของคาร์เนชั่นพันธุ์ G.J. Sim บนอาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของเกลือแร่ลงเหลือ 1/2 เท่าของความเข้มข้นปกติที่ใช้ + น้ำตาล 3% + myo-inositol 100 มก/ล thiamine . HCl + pyridoxine . HCl และ nicotinic acid อย่างละ 0.5 มก/ล และวุ้น 10 ก/ล พบว่า ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญที่เหมาะสมคือ IAA + BAP อย่างละ 3 x 10^{-6} โมลาร์ หรือใช้ 2,4-D 10^{-6} โมลาร์ เพียงอย่างเดียวทำให้น้ำหนักสดของแคลลัสเพิ่มขึ้น 100 เท่า ตลอดเวลา 4 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 25 °ซ

Debergh (1973) ได้เลี้ยงส่วนของลำต้นของคาร์เนชั่นพันธุ์ Lena บนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าอาหารที่มี 2,4-D 1 มก/ล ส่วนปลายของชิ้นส่วนที่เลี้ยงเกิดแคลลัสแต่ไม่เกิดรากและอาหารที่มี IAA และ kinetin อย่างละ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

0.25 มก/ล ชักนำให้เกิดแคลลัสที่ปลายทั้งสองข้างของชิ้นส่วนที่เลี้ยงและเกิดรากขึ้นประมาณ 30% และเปอร์เซนต์การเกิดรากจะเพิ่มขึ้น เมื่อเติม L-tyrosine ลงไป 75 มก/ล

Earle and Langhans (1975) ได้เลี้ยงปลายยอดคาร์เนชั่น พันธุ์ CSU White Pikes Peak บนอาหารสูตร MS ที่มี kinetin 0.5 มก/ล และ NAA 0.1 มก/ล พบว่าเกิดยอดจำนวนมาก

Shabde and Murashige (1977) ได้นำปลายยอดคาร์เนชั่นขนาดต่าง ๆ มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี thiamine . HCl i-inositol น้ำตาล และวุ้น ความเข้มข้น 0.4, 100, 30,000 และ 6,000 มก/ล ตามลำดับ และใช้ IAA และ/หรือ kinetin ความเข้มข้น 1 มก/ล โดยเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 27 °ซ ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ นาน 16 ชม พบว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงซึ่งมีเฉพาะหน่วยเติบโตที่เลี้ยงบนอาหารที่ไม่มี kinetin หรือ IAA ตายหมด แต่ถ้าเลี้ยงบนอาหารที่มีทั้ง kinetin และ IAA จะเกิดเป็นต้นสมบูรณ์ 65% ส่วนชิ้นส่วนที่มีจุดกำเนิดใบ 1 คู่ ให้ต้นสมบูรณ์ ถึง 95% สำหรับชิ้นส่วนที่มีจุดกำเนิดใบ 2 คู่ และมีใบที่คลี่แล้ว 1 คู่ ให้ต้นสมบูรณ์ 56% บนอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญ แต่ถ้าเลี้ยงบนอาหารที่มี kinetin เพียงอย่างเดียวจะเกิดต้นสมบูรณ์ 60% และถ้าเลี้ยงไว้บนอาหารที่มี IAA เพียงอย่างเดียว จะเกิดต้นสมบูรณ์ถึง 90%

ในปีเดียวกันนี้ Davis et al (1977) ได้ศึกษาผลของส่วนประกอบของอาหารที่มีต่อการเจริญและการพัฒนาของยอดจำนวนมาก เพื่อผลิตต้นสมบูรณ์ และตรวจสอบความเป็นไปได้ของการกลายพันธุ์ที่เพิ่มขึ้น ในระหว่างการขยายพันธุ์ และรายงานว่าขั้นตอน การผลิตสายพันธุ์ และต้นที่ปลอดโรค มี 3 ขั้นตอน คือ

ขั้นตอนที่ 1 การเริ่มเลี้ยงปลายยอด (initiation stage)

ขั้นตอนที่ 2 การเพิ่มปริมาณยอด (shoot multiplication stage)

ขั้นตอนที่ 3 การชักนำให้ยอดเกิดราก (rooting stage)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ซึ่งในขั้นตอนที่ 1 ได้ทำการเลี้ยงปลายยอดขนาด 1 มม ซึ่งมีใบอ่อนมาก 1-2 คู่ บนอาหารสูตร MS + วุ้น 8 ก/ล + kinetin และ NAA 2 และ 0.5 มก/ล ตามลำดับ เลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 20 $\pm$ 2 °ซ ความเข้มแสง 2 กิโลลักซ์

ขั้นตอนที่ 2 ทำการย้ายปลายยอดที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 ไปเลี้ยงในอาหารเหลว เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 °ซ นาน 3 สัปดาห์ ให้แสงความเข้ม 8-10 กิโลลักซ์

และขั้นตอนที่ 3 เลือกยอดจากขั้นตอนที่ 2 ที่มีความสูง 2 ซม หรือมากกว่าไปล้างด้วยน้ำสะอาด แล้วจุ่มโคนต้นด้วยสารเร่งราก จากนั้นนำไปปลูกหรือชำในแปลงที่ติดตั้งด้วยระบบพ่นฝอยเป็นระยะ ๆ เพื่อเพิ่มความชื้นในแปลง ซึ่งจะกระตุ้นให้มีการเกิดรากได้ดี และเร็วขึ้น

นอกจากนี้ เขายังได้ศึกษาอาหาร 14 สูตร โดยใช้ธาตุอาหารหลัก 7 สูตร คือ Nitsch and Nitsch (1956), Nitsch and Nitsch (1969), Gautheret, White, Heller, MS และ Hildebrandt Riker and Duggar ส่วนธาตุอาหารรองที่ใช้ร่วมกับธาตุอาหารหลักทั้ง 7 สูตรนั้น จะใช้ 2 สูตร คือ Heller และ MS จากการทดลองนี้ พบว่าธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองสูตร MS เหมาะสำหรับการเจริญเติบโตของปลายยอดมากที่สุด

สำหรับการศึกษาชนิดของน้ำตาลที่ใช้ โดยเลี้ยงปลายยอดบนอาหาร MS ที่มี glycine + myo-inositol 2 และ 50 มก/ล ตามลำดับ และใช้น้ำตาล sucrose, glucose, fructose โดยใช้แบบเดี่ยวหรือร่วมกัน 2 ชนิด ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า อัตราการเจริญของยอดจำนวนมากมีสูงสุด เมื่อใช้ sucrose 50 ก/ล glucose 40 ก/ล และ sucrose ร่วมกับ glucose อย่างละ 20 ก/ล การใช้ glucose จะได้ยอดที่มีสีเขียวเข้มมากกว่าการใช้ sucrose หรือ fructose และพบว่าการใช้ fructose ทำให้การเจริญเติบโตของคาร์เนชั่นเกิดได้น้อยที่สุด และนอกจากนี้ยังทำให้ยอดมีอาการเหลืองซีด (chlorotic)

ในปี 1979 Sutter and Langhans เลี้ยงปลายยอดคาร์เนชั่น พันธุ์ White Pike's Peak บนอาหารสูตร LS ที่มี kinetin และ NAA 0.5 และ 0.1 มก/ล ตามลำดับ + น้ำตาล และวุ้น 3 และ 0.8% ตามลำดับ ในเวลา 3 สัปดาห์ ปลายยอดจะมีความสูง 1 ซม ซึ่งเมื่อย้ายไปเลี้ยงบนอาหารเหลวสูตรเดิม โดยวางนอนบนล้อหมุน 1 รอบต่อนาที และเมื่อยอดมีความยาว 1.5-2 ซม ย้ายไปเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่มี kinetin และ NAA 0.1 และ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

0.5 มก/ล ตามลำดับ โดยเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 22 °ซ ความเข้มแสง 4 หรือ 10 กิโลลักซ์ พบว่าการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อได้ต้นปกติเพียงร้อยละ 2-4 นอกจากนี้ยังพบว่า ต้นที่มีลักษณะฉ่ำน้ำจะตายง่าย เมื่อย้ายปลูกเพราะใบไม่มีการสร้าง epicuticular wax ทำให้มีโอกาสสูญเสียน้ำได้มากระหว่างการย้ายปลูก

Rybalko and Kharuta (1979) ได้เลี้ยงหน่วยเติบโตของคาร์เนชั่นพันธุ์ Sim พบว่าเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร Van Hoff จะเกิดยอดดีที่สุด และ เมื่อย้ายยอดไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี NAA 0.2 มก/ล และ IAA 0.3 มก/ล ต้นสมบูรณ์มีการพัฒนาดีกว่าการเลี้ยงยอดบนอาหารที่มี IAA 1 มก/ล เพียงอย่างเดียว

ในปีถัดมา Roest and Bokelmann (1980) รายงานว่า การเลี้ยงส่วนของลำต้นจากข้อของคาร์เนชั่น บนอาหารที่มี BA และ IAA ความเข้มข้น 1.0 และ 0.1 มก/ล ตามลำดับ โดยเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 20 °ซ ความเข้มแสง 10,000 ลักซ์ นาน 14 ชม จะชักนำให้ยอดพัฒนา ส่วนอาหารที่ทำให้เกิดรากคือ อาหารที่ไม่มี BA การขยายพันธุ์วิธีนี้นับตั้งแต่นำชิ้นส่วนมาเลี้ยงจนถึงออกดอกนั้น จะใช้เวลา 9 เดือน

Hempel (1981) ได้ขยายพันธุ์คาร์เนชั่น พันธุ์ William Sim โดยเลี้ยงปลายยอดบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่มี NAA และ kinetin อย่างละ 1 มก/ล ผลปรากฏว่ายอดและรากมีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้น

นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Kozak and Hempel (1981) ได้ทดลองเลี้ยงปลายยอดคาร์เนชั่น พันธุ์ Lena บนอาหารสูตร MS + BA + NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าอาหารที่มี BA 0.5 มก/ล และ NAA 0.1 มก/ล ทำให้ยอดเกิดต้นสมบูรณ์จำนวนมากที่สุด

ในปี 1981 Weryszko and Hempel รายงานว่า การเลี้ยงส่วนยอดคาร์เนชั่น พันธุ์ Scania 3c บนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่มี BA 0.5 มก/ล ทำให้เกิดต้นสมบูรณ์จำนวนมากเช่นกัน

Dabski et al (1981) เลี้ยงปลายยอดคาร์เนชั่นพันธุ์ Scania 3C บนอาหารสูตร MS + kinetin และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี kinetin 13.5 ไมโครโมลาร์ + NAA 0.5 ไมโครโมลาร์ ทำให้ยอดมีน้ำหนักสดมากที่สุด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นอกจากการทดลองดังกล่าวแล้ว ยังมีรายงานเกี่ยวกับคุณภาพของต้นด้วยคือ Leshem (1983) ขยายพันธุ์คาร์เนชั่นพันธุ์ Cerise Royalette โดยใช้หน่วยเติบโตขนาด 0.3 มม มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS + NAA 0.1 มก/ล + BAP 0.05 มก/ล + วุ้น 0.8 หรือ 1.2% โดยเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 24 °ซ ความเข้มแสง 5,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชม พบว่าหน่วยเติบโตเจริญเป็นยอด 3 ลักษณะ คือยอดปกติ กึ่งโปร่งแสง (translucent) และฉ่ำน้ำ (succulent) ซึ่งปลายยอดที่ฉ่ำน้ำนี้ไม่มี pro-vascular tissue ใบมีช่องว่างของ mesophyll cell ที่ใหญ่ มีปากใบน้อย และไม่มี plate meristem การเพิ่มความเข้มข้นของวุ้นจาก 0.8 เป็น 1.2% ทำให้สัดส่วนของยอดปกติเพิ่มขึ้นจาก 44 เป็น 77%

Oprea and Pamfil (1983) รายงานว่าการเลี้ยงหน่วยเติบโตปลายยอดหรือตาข้างขนาด 0.2 ถึง 0.8 มม ของคาร์เนชั่นพันธุ์ Lena, Scania และ White Sim นั้น หน่วยเติบโต ขนาด 0.2 มม จะเกิดต้นใหม่ 20% ในเวลา 8-9 สัปดาห์ ส่วนหน่วยเติบโตขนาด 0.8 มม จะเกิดต้นใหม่ ภายในเวลา 6 สัปดาห์ และยังรายงานว่า การเกิดต้นใหม่ในพันธุ์ Lena และ Scania เกิดได้ดีกว่าพันธุ์ White Sim

Hakkaart and Versluijs (1983) ได้รายงานว่าลักษณะการฉ่ำน้ำเป็นความผิดปกติทางสรีรวิทยาของพืชที่เจริญในหลอด ต้นสมบูรณ์ที่ฉ่ำน้ำจะมีใบกว้างหนา และที่สำคัญคือเมื่อย้ายปลูกลงดินจะตาย การฉ่ำน้ำของคาร์เนชั่นขึ้นอยู่กับพันธุ์ด้วยโดยที่คาร์เนชั่นพันธุ์ Doranja และ Polarthur มีลักษณะฉ่ำน้ำมาก ในขณะที่พันธุ์ Eolo เกือบจะไม่พบลักษณะดังกล่าวเลย และนอกจากนี้เขายังรายงานว่า ชนิดของฝาที่ปิดหลอดทดลอง มีผลต่อการฉ่ำน้ำด้วยเหมือนกัน ซึ่งผลการทดลองเปรียบเทียบฝาสำหรับปิดหลอดทดลองในการเลี้ยงคาร์เนชั่นพันธุ์ Elvira และ Sam's Pride พบว่า ฝาสำลี ฝาโลหะ และจุก (steri stop) มีส่วนช่วยทำให้ได้ต้นปกติมากกว่าเมื่อใช้แผ่นอลูมินัม (aluminum foil) หรือพาราฟิล์ม (parafilm)

Leshem (1986) ได้เลี้ยงตาข้างของคาร์เนชั่นพันธุ์ Cerise Royalette บนอาหารสูตร MS ที่มี thiamine . HCl + myo-inositol + NAA และ BAP ความเข้มข้น 1.0, 100, 1.0 และ 0.05 มก/ล ตามลำดับ + น้ำตาล 30 ก/ล และวุ้น 0.7% โดยเลี้ยงที่อุณหภูมิ 24 °ซ ความเข้มแสง 40 ไมโครโมล/วินาที/ตรม พบว่าปลายยอดประมาณครึ่งหนึ่งเจริญเป็นต้นฉ่ำน้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Villalobos (1986) ได้ศึกษาความเข้มข้นของอาหารสูตร MS 4 ระดับ คือ 25 50, 75 และ 100% และเติม thiamine . HCl 0.4 มก/ล + inositol 100 มก/ล + น้ำตาล 3% และวุ้น 8 ก/ล + IAA และ kinetin อย่างละ 1 มก/ล ลงไปในอาหารทั้ง 4 ระดับ ในการเลี้ยงหน่วยเติบโตและปลายยอดคาร์เนชั่น พบว่าอาหารสูตร MS ความเข้มข้น 100% ทำให้ชิ้นส่วนทั้งสองเจริญและเปลี่ยนแปลงรูปร่างได้ดีที่สุด

Ghosh (1988) เลี้ยงตาจากข้อของคาร์เนชั่น พันธุ์ Sim 2 พันธุ์ พันธุ์แรกเป็นพันธุ์ที่มีดอกสีเหลือง อีกพันธุ์หนึ่งมีดอกสีส้ม บนอาหารวุ้นสูตร B_5 ที่มี BA + NAA 10^{-5} และ 10^{-6} โมลาร์ ตามลำดับ + น้ำตาล 3% พบว่าการเลี้ยงตาข้าง 1 ตา เป็นเวลา 1 สัปดาห์ จะเกิดยอดใหม่ 16 ยอด ในพันธุ์ที่มีดอกสีเหลือง และ 12 ยอด ในพันธุ์ที่มีดอกสีส้ม และสามารถชักนำให้เกิดรากโดยเลี้ยงยอดบนกระดาษกรองพับสำหรับวางเนื้อเยื่อ (filter paper bridge) ในอาหารเหลวสูตร B_5 ที่มีน้ำตาล 1.5%

ไฮเดรนเยีย (Hydrangea)

ในปี 1974 Beauchesne รายงานว่าหน่วยเติบโตของไฮเดรนเยียที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงหรืออาหารสูตร Knop สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนได้ และเขาพบว่าพันธุ์ Merveille ขยายพันธุ์ด้วยวิธีการนี้ง่ายกว่าพันธุ์ Soeurtherese นอกจากนี้เขายังรายงานว่าหน่วยเติบโตของไฮเดรนเยียเมื่อนำมาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อมีการติดเชื้อแบคทีเรียสูง

Sebastian and Heuser (1987) ได้นำตาที่พักตัวของ Hydrangea quercifolia Bartr.มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตระดับต่างๆ + น้ำตาล และวุ้น 3 และ 0.8% ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 26 $\pm$ 2 °ซ พบว่า zeatin 10 ไมโครโมลาร์ + GA_3 5 ไมโครโมลาร์ มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการทำให้ตาพ้นการพักตัวและทำให้ยอดยืดยาว และพบว่าเมื่อนำยอดมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ลดระดับความเข้มข้นของเกลือแร่ลงเหลือ 1/2 เท่าของที่ใช้ตามปกติ + น้ำตาล และวุ้น 2 และ 1% ตามลำดับ + IBA 15 ไมโครโมลาร์ ทำให้เกิดราก 56% ซึ่งดีกว่าการใช้ IAA 15 ไมโครโมลาร์ สำหรับต้นที่ออกรากแล้วสามารถ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ย้ายปลูกลงในส่วนผสมของพีทมอส(peatmoss) เวอร์มิคูไลท์ (vermiculite) + เพอร์ไรท์ (perlite) ที่ฆ่าเชื้อแล้วในอัตราส่วน 3 : 1 : 1 โดยปริมาตร แล้วปิดด้วยถุงพลาสติก นำไปไว้ในตู้ควบคุมการเจริญเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ก่อนย้ายไปยังโรงเรือนกระจก

Stoltz (1984) ได้ใช้อาหารพื้นฐานสูตร MS + NaH_2PO_4 + myo-inositol + thiamine . HCl ที่ความเข้มข้น 170, 100 และ 0.4 มก/ล ตามลำดับ ผสมในวุ้น 7,000 มก/ล และน้ำตาล 20,000 มก/ล เลี้ยงตาไฮเดรนเยียพันธุ์ Merveille เพื่อศึกษาการตอบสนองของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเกิดยอด โดยใช้ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า BA 1 และ 5 มก/ล ทำให้เกิดยอดมากที่สุดส่วนอาหารที่ชักนำให้เกิดราก คืออาหารสูตร MS ที่ลดความเข้มข้นของเกลือแร่ลงเหลือ 1/2 เท่าของที่ใช้ปกติ + น้ำตาล และวุ้น 20 และ 7 ก/ล ตามลำดับ

ต่อมาในปี 1986 Bailey et al ได้ศึกษาผลของการย้ายยอดไฮเดรนเยียไปเลี้ยงบนอาหารใหม่หลาย ๆ ครั้งเพื่อศึกษาชนิดและความเข้มข้นของไซโตไคนิน อาหารพื้นฐานและชนิดของวุ้นในการเลี้ยงปลายยอดไฮเดรนเยีย พันธุ์ Rose Supreme เพื่อให้เกิดยอดมากที่สุด ผลปรากฏว่าการเลี้ยงปลายยอดไฮเดรนเยียบนอาหารสูตรของ Lloyd and McCown's woody plant medium (WPM, 1980) + BA 8 ไมโครโมลาร์ + วุ้น (Sigma agar) 6 ก/ล ทำให้เกิดยอดจำนวนมากที่สุดหลังการย้ายไปเลี้ยงบนอาหารใหม่ 4 สัปดาห์ และพบว่าจำนวนยอดที่เกิดขึ้นเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร Gamborg's B_5 ดัดแปลงหรืออาหารสูตร MS ดัดแปลง หรือ WPM โดยที่แต่ละสูตรอาหารมี BA 8 ไมโครโมลาร์ และ วุ้น 6 ก/ล ไม่มีความแตกต่างกัน ส่วนการใช้วุ้นชนิดเดียวกันนี้ 6 ก/ล หรือ Gel Rite 2 ก/ล ผสมใน WPM และ BA 8 ไมโครโมลาร์ ก็ไม่ทำให้จำนวนยอดที่เกิดขึ้นแตกต่างกัน แต่น้ำหนักสดและความยาวของยอดที่เลี้ยงบน Gel Rite มีมากกว่าบนวุ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved