

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

1. ลักษณะทั่วไปของเทียน

พืชในวงศ์ Balsaminaceae มีมากกว่า 1,000 ชนิด แบ่งออกได้เป็น 2 สกุลใหญ่ได้แก่ *Hydrocera* และ *Impatiens* (Fischer, 2004) เทียนเป็นพืชที่มีการกระจายทั้งในเขตร้อนและเขตร้อนชื้น แต่มีบางชนิดที่มีถิ่นกำเนิดในแถบยุโรป เอเชีย และ อเมริกาเหนือ แต่จะไม่พบในแถบอเมริกาใต้ และออสเตรเลีย สอดคล้องกับ Kenneth and Bonar (1993) ซึ่งกล่าวว่า พืชในวงศ์ Balsaminaceae เป็นพืชสกุลใหญ่ที่มีทั้งชนิดที่เป็นพืชล้มลุก และพืชข้ามปีที่มีถิ่นกำเนิดทั้งในเขตอบอุ่นแถบอัฟริกา และเขตหนาวแถบยุโรป ทั้งนี้ Stevens (2004) รายงานว่าพืชในกลุ่มของ *Hydrocera* (ภาพที่ 1) เป็นพืชที่เจริญในสภาพพื้นที่กึ่งแห้งกึ่งชื้น และ Anderberg *et al.* (2002) กล่าวว่าพืชชนิดนี้มีถิ่นกำเนิดในแถบอินโดนีเซีย – มาเลเซีย และ กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช (2550) รายงานว่า *Hydrocera* หรือเทียนน้ำ เป็นพืชล้มลุก ลำต้นตั้งตรง สูงประมาณ 150 ซม การเรียงใบแบบเวียน ไม่มีก้านใบ ใบแคบ รูปใบหอก ปลายใบแหลม ขอบใบจักฟันเลื่อย ไม่มีหูใบ ช่อดอกแบบกระจุก ออกดอกตรงซอกใบ ดอกย่อยสีชมพูเข้ม *Hydrocera* มีลักษณะเฉพาะคือ กลีบดอกแยกจากกัน ผล เป็นแบบเมล็ดเดี่ยวแข็ง (drupe) ฐานผลตกลงบวม สำหรับพืชในสกุล Balsaminaceae มีเพียง *Impatiens* เพียงสกุลเดียวที่สามารถดำรงพันธุ์ได้ด้วยตัวเอง ส่วน *Impatiens* มีกลีบห้ำกลีบที่เชื่อมติดกัน ผลเป็นแบบแห้งแตก (capsule) มี 5 ช่อง ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างพืชทั้งสองสกุลนี้ สามารถพิสูจน์ได้ จากการศึกษาทางด้านชีวโมเลกุล (Yuan *et al.* 2004)



ภาพที่ 1 เทียนน้ำ *Hydrocera* sp.

2. ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเทียน

เทียนเป็นไม้ที่มีนิสัยการเจริญเติบโตที่เป็นไต่ตั้ง แบบพืชรัดหรือเป็นพืชรัดขึ้น
 ทั้งนี้ Watson and Dallwitz (2006) กล่าวว่า *Impatiens balsamina* มีลักษณะเป็นไม้พุ่มเตี้ย อวบน้ำ
 สูงตั้งแต่ 30-70 ซม เป็นพืชมบูรณ์เพศ ถ้ายละอองเรณูโดยอาศัยแมลง เกสรมีลักษณะเฉพาะ
 ตัวอย่างเด่นชัด

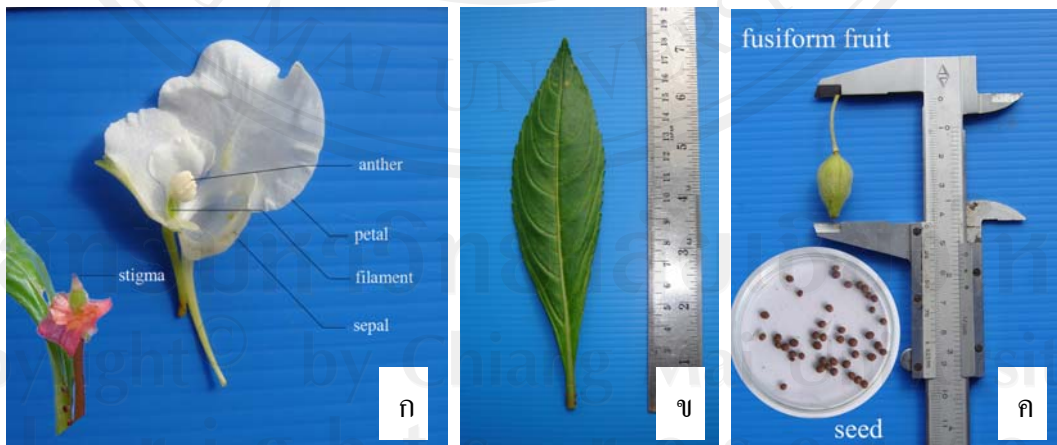
2.1 ลำต้น กลี้ยง สีเขียวอ่อน เป็นไม้เนื้ออ่อนที่ค่อนข้างอวบน้ำ

2.2 ใบ เป็นใบเดี่ยว (ภาพที่ 2 ข) เรียงตัวแบบสลับ ไม่มีก้านใบหุ้ม ใบรูปไข่หรือขอบ
 ขนานแกมไข่ โคนใบสอบเรียว ปลายใบเป็นติ่งแหลม ขอบใบจักฟันเลื่อย

2.3 ดอก เป็นดอกเดี่ยว เกิดที่บริเวณซอกใบ (ภาพที่ 2 ก) ดอกเป็นแบบสมมาตรด้านข้าง
 ประกอบด้วยวงกลีบ 5 กลีบ แบ่งเป็นวงกลีบดอก 3 กลีบ และวงกลีบรองดอกหรือกลีบเลี้ยง 2 กลีบ
 แบบซ้อนเหลื่อม ไม่มีฐานดอก กลีบรองดอกแปรรูปเป็นเดือย วงเกสรเพศผู้แยกออกจากวงเกสรเพศ
 เมียแต่จะเชื่อมเป็นคู่รอบข้อ ลักษณะคล้ายหมวกที่ครอบปลายของเกสรเพศเมีย โดยเกสรเพศผู้
 จะเชื่อมติดเป็นกลุ่มก้านชูอับเรณู 1 อันต่อ 1 วง ปลายยอดเกสรเพศเมียแยกเป็นแฉก 1-5 แฉก
 รังไข่ มี 5 คาร์เพล รังไข่อยู่เหนือวงกลีบ พลาเซนตาเป็นแบบรอบแกนร่วม ออวุล 5-50 ต่อช่อง
 ลักษณะของออวุลเป็นแบบคว่ำ

2.4 ผล เป็นรูปกระสวย ผิวมีขน (ภาพที่ 2 ค) เมื่อบแห้งมีลักษณะเหมือนถุงหุ้ม หรือผล
 เมล็ดเดี่ยวแห้ง

2.5 เมล็ด ไม่มีร่างแหของเอ็นโดสเปิร์ม เอ็มบริโอตั้งตรง



ภาพที่ 2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของ *Impatiens balsamina*

ก = ดอก

ข = ใบ

ค = ผล

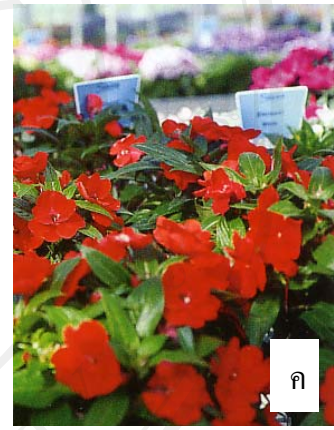
จากการศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับเทียนในเบื้องต้น พบว่าสามารถจำแนกเทียนออกเป็นกลุ่ม โดย นันทยา (2545) ได้กล่าวไว้ ดังนี้ กลุ่มที่ 1 เทียนที่เป็นพันธุ์การค้าได้แก่ *I. balsamina* , *I. wallerana* (เทียนฝรั่ง), *I. hakeri* Bull. (New Guinea Impatien) องค์การสวนพฤกษศาสตร์ (2541, 2546) พบว่า มีเทียนพันธุ์ป่าหรือเทียนที่พบในธรรมชาติ อีกกลุ่มหนึ่งได้แก่ *I. claviger* Hook .f. (เทียนภูคา) *I. longiloba* Craib. (เทียนคำ) *I. phluangensis* T . Shimizu (เทียนภูหลวง) *I. radiata* Hook. f. (เทียนแจ่ม / เทียนหางยาว) *I. chinensis* L. (เทียนหางงอ) *I. chiangdaoensis* (เทียนเชียงดาว) *I. psittacina* เช่น เทียนปากนกแก้ว (ภาพที่ 3) นอกจากนี้ Gibbons and Davies (1994) กล่าวว่า พบเทียนที่มีถิ่นอาศัยในป่าเขตนาวอีก 4 ชนิดได้แก่ *I. noli-tangere* *I. capensis* *I. parviflora* และ *I. glandulifera* และ Innes (1995) ยังได้กล่าวถึง *I . niamniamensis* ที่มีลักษณะคล้าย ปากนกแก้ว (parrot plant)



Impatiens balsamina



Impatiens wallerana



Impatiens hakeri Bull.



Impatiens chiangdaoensis



Impatiens psittacina



Impatiens chinensis L

ภาพที่ 3 เทียนพันธุ์การค้า (ก- ค) และ เทียนพันธุ์ป่าที่พบในประเทศไทย (ง – ฉ)

3. การกระจายพันธุ์ของเทียน

Song *et al.* (2003) กล่าวถึง นิเวศวิทยาและการกระจายตัวของเทียนชนิด *I. balsamina* พบว่ามีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนและกึ่งร้อนของเอเชียและแอฟริกา ตั้งแต่ประเทศจีนจนถึงด้านตะวันออกเฉียงเหนือของอินเดีย สอดคล้องกับ Grey (1997) ซึ่งกล่าวว่า พบเทียนชนิดนี้ ในยุโรป แต่พบขึ้นตามธรรมชาติในเขตกึ่งร้อนของเอเชียด้วย และ Banner and Klopmeier (1995) ได้กล่าวว่า สำหรับ *I. hakeri* Bull. หรือ New Guinea Impatiens นั้นมีถิ่นกำเนิดในนิวกินีถึงเกาะโซโลมอน พบขึ้นอยู่ระหว่างก้นหินขึ้นๆ ถิ่นกำเนิดของเทียนนิวกินีจึงเป็นป่าชื้น มีแสงแดดจัดต้องลอดพุ่มไม้มาถึงและมีอินทรีย์วัตถุมากทั้งนี้ Aimone (1990) รายงานว่า *I. wallerana* พบขึ้นอยู่ในเคนยาตอนใต้ แทนเซเนีย โมแซมบิก เกาะแซนชิบาร์ เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อเมริกากลางและอเมริกาใต้หมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก ซึ่งก่อนหน้านี้ Hooker (1905) ได้ศึกษาและจำแนกชนิดของพืชในสกุลเทียน ในเขตเทือกเขาแถบหิมาลัยตะวันออกเฉียงใต้ ตอนกลางของเนปาล ไปจนถึงเทือกเขา Mishmi ตอนบนของแคว้นอัสสัม รวมไปถึงหุบเขาใน Chumbi ในทิเบตจำนวน 63 ชนิด พบว่า *I. racemosa* และ *I. scabrida* เจริญได้ดีในที่ร่มรำไร ในแถบป่าสน และป่าที่มีต้นโรโคเดรนดรอน ส่วน *I. sunkoshiensis* และ *I. falcifer* พบทั่วไปในเนปาล ต่อมา Akiyama *et al.* (1991) ได้ศึกษาเกี่ยวกับพืชในสกุล *Impatiens* ที่มีมากกว่า 500 ชนิด ที่กระจายตัวในเทือกเขาแถบเอเชียเขตร้อน หิมาลัย ทางตอนเหนือของเอเชีย แอฟริกา อเมริกาเหนือและเขตหนาวของยุโรป โดยมีความหลากหลายมากที่สุด ในเขตเทือกเขาหิมาลัย ซึ่งส่วนใหญ่จะเจริญในป่าไม้ที่มีพืชใบกว้างและในป่าสน

Gibbons and Davies (1994) ได้ศึกษาเทียนพื้นถิ่นในเกาะอังกฤษและทางตอนเหนือของฝรั่งเศส ได้กล่าวถึง สีที่สวยงามและ ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของดอกเทียนป่าถึง 4 ชนิด ได้แก่ *I. noli-tangere* (Touch - me-not Balsam) *I. capensis* (Orange Balsam) พบขึ้นริมแม่น้ำทางตอนใต้ของเกาะอังกฤษและฝรั่งเศส *I. parviflora* (Small Balsam) พบทั่วไปตามที่ชื้นและในที่ร่มรำไร ออกดอกในช่วงเดือน มิถุนายน – ตุลาคม *Impatiens glandulifera* (Indian Balsam หรือ Policeman' Helmet) ออกดอกเดือน กรกฎาคม – พฤศจิกายนเช่นกัน แต่พบขึ้นตามริมแม่น้ำที่ชื้นและในที่ร่มรำไร

4. การจำแนกชนิดจากสัณฐานวิทยาของเทียนพันธุ์ป่าในประเทศไทย

องค์การสวนพฤกษศาสตร์ฯ(2541) พบการกระจายของเทียนป่าตามเขตป่าต่างๆของประเทศไทยกว่า 10 ชนิดโดยพบ

4.1 *Impatiens psittacina* Hook. f หรือ เทียนนกแก้ว

พบตามเขาหินปูน ที่ระดับสูง 1,500 - 1,800 เมตรทางภาคเหนือของประเทศไทย

4.1.1 ลำต้น เป็นพืชรัดมลูก อวบน้ำอายุหลายปี สูงได้ถึง 1.5 เมตร

4.1.2 ใบ เป็นใบเดี่ยว รูปไข่กว้าง โคนใบมน ปลายใบแหลม ขอบใบจัก ขนาดกว้าง 2-4 ซม. ยาว 4-6 ซม.

4.1.3 ดอก สีม่วงแกมแดงและขาว ออกเดี่ยวตามก้านใบหรือปลายยอด ขนาดดอกบาน 2-3 ซม. ก้านดอกยาวได้ถึง 6 ซม. กลีบรองดอก รูปถ้วยปากบาน ส่วนโคนเป็นถุง มีวงน้ำหวานสั้นอยู่ท้ายสุด บริเวณที่ติดดินกับก้านดอกพองเป็นปีกแคบ กลีบล่างแผ่เป็นปีกกว้าง ปลายเว้าเป็นพู เกสรผู้เป็นมัด ลักษณะมีขนอยู่ในหลอดดอก

4.1.4 ผล รูปกระสวย ภายในมีเมล็ดมาก

4.2 *Impatiens chinensis* L

ต่อมาองค์การสวนพฤกษศาสตร์ฯ (2546) รายงานว่าเป็นพืชที่พบได้ในประเทศจีนและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในประเทศไทยพบที่ระดับความสูง 500 – 1,100 เมตร ตามป่าหุบเขาที่มีน้ำค้างหรือบนภูเขาสูงทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

4.2.1 ลำต้น สูง 30 – 50 ซม. ต้นเกลี้ยงเปราะและหักง่าย

4.2.2 ใบ เดี่ยว ออกดอกตรงข้ามรูปขอบขนานแคบ หรือรูปหอกกว้าง 0.5 ซม. ขอบใบหยัก ปลายใบเรียวแหลม โคนใบป้านหรือหยักเป็นติ่งหู

4.2.3 ดอก สีชมพู ดอกเดี่ยวออกตามซอกใบ ดอกบานกว้างถึง 2.5 ซม. กลีบรองดอก 3 กลีบ กลีบด้านล่างมีขนาดใหญ่กว่ากลีบด้านข้างและเชื่อมกันเป็นถุง ส่วนปลายเป็นเดือยยาวเรียวและโค้งงอ กลีบดอก 5 กลีบเป็นกลีบบน 1 กลีบ กลีบข้าง 2 กลีบและกลีบล่างมีขนาดใหญ่ 2 กลีบ แผ่กว้างรูปไข่กลับ

4.2.4 ผล สีเขียวอ่อนเกลี้ยง ก้านยาวเมื่อแก่จะโค้งงอ แตกดีดเมล็ดไปได้ไกล

4.3 *Impatiens claviger* Hook .f.

เป็นชนิดมีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดียและแพร่กระจายมาถึงภูมิภาคอินโดจีน ในประเทศไทยพบตามป่าดิบเขา ที่ดอยเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ และดอยภูคา จังหวัดน่านออกดอกช่วงเดือน มีนาคม – เมษายน รายงานลักษณะทางสัณฐานของต้นเทียนไว้ดังนี้

4.3.1 ลำต้น สูง 40 – 70 ซม. ต้นเกลี้ยง เปราะง่าย

4.3.2 ใบ เดี่ยว เรียงสลับ รูปรีแกมหอกกลับ กว้าง 3 - 7.5 ซม. ยาว 5 - 18 ซม. ผิวเกลี้ยงทั้งสองด้าน ปลายใบแหลม โคนใบสอบ

4.3.3 ดอก สีขาว ออกเป็นช่อจากซอกใบ ดอกย่อยบานเต็มที่กว้าง 2 ซม. กลีบรองดอก 5 กลีบ กลีบล่างเชื่อมเป็นรูปดуг ส่วนฐานยื่นโค้งลงเล็กน้อย กลีบดอก 5 กลีบ ปลายกลีบล่างมีแต้มลายสีแดง ปนเหลือง

4.3.4 ผล รูปทรงกระบอก ผิวเกลี้ยง เมื่อแก่แล้วแตก

4.4 *Impatiens phluangensis* T. Shimizu

เป็นพืชเฉพาะถิ่นของไทย พบตามเขาหินทราย ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ที่ระดับความสูง 1,300 – 1,500 เมตร

4.4.1 ลำต้น เป็นไม้ล้มลุกอายุหลายปี ความสูง 60 ซม. ลำต้นเกลี้ยง

4.4.2 ใบ เดี่ยว เรียงสลับ รูปไข่หรือไข่กลับ ปลายใบแหลมหรือเรียวแหลม โคนสอบเรียว ขนาดกว้าง 2.5 – 6 ซม. ยาว 6 – 15 ซม. มีขนทั่วไป

4.4.3 ดอก สีชมพู เป็นดอกเดี่ยวหรือเป็นพุ่ม 2 – 3 ดอก ตามซอกใบ ก้านดอกยาว 5 – 6 ซม. มีขน กลีบล่างเชื่อมเป็นถุงส่วนปลายเป็นติ่งโค้ง ยาว 4 – 5 ซม. กลีบดอก 5 กลีบ กลีบบน 1 กลีบแผ่รูปหัวใจ กลีบข้าง 2 กลีบ รูปขอบขนาน กลีบล่าง 2 กลีบใหญ่ รูปครึ่งวงกลม

4.4.4 ผล รูปกระสวยมีขน แก่แล้วแตก

5. การศึกษาลักษณะเพื่อประโยชน์ทางอนุกรมวิธานของพืชทั่วไป

5.1 ลักษณะทางกายวิภาคศาสตร์

Arditti (1992) ศึกษากายวิภาควิทยาของกล้วยไม้ดินสกุล *Malaxis* โดยใช้ *M. latifolia* เป็นตัวแทน พบว่า พืชสกุลนี้มีรากที่มีวิเลเมน 1-2 ชั้นและเซลล์มีผนังเซลล์บาง มีรูเปิดขนาดต่าง ๆ เซลล์ชั้นนอกมักจะมีย่านใหญ่ ในบางกรณีอาจจะพบว่า รากของ *Malaxis* บางชนิดมีเนื้อเยื่อคอร์เทกซ์ที่ปกติ มีเซลล์พาราเรงคิมาเป็นองค์ประกอบ แต่เซลล์เหล่านั้นมีผลึกรูปเข็มจำนวนมากบรรจุอยู่ในเซลล์ (2549) ศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของว่านจูงนาง 2 ชนิด คือ *Geodorum recurvum* (Roxb.) Alston และ *G. siamense* Rolfe ex Downie พบว่ามีลักษณะคล้ายคลึงกัน คือ รากมีระบบเนื้อเยื่อประกอบด้วยชั้นของเนื้อเยื่อผิวหนัง 4-9 ชั้น เซลล์เป็นเนื้อเยื่อผิว 1 ชั้น เซลล์ที่เหลือเป็นเนื้อเยื่อชั้นใต้ผิวหนัง คอร์เทกซ์เป็นเซลล์พาราเรงคิมา มีรูปร่างค่อนข้างกลมหรือหลายเหลี่ยม มีหลายขนาด ผนังเซลล์บาง เซลล์เรียงตัวค่อนข้างแน่น มีช่องว่างระหว่างเซลล์ เซลล์ในชั้นเนื้อเยื่อชั้นในสุดของคอร์เทกซ์มีรูปร่างไม่แน่นอนเป็นเซลล์หลายเหลี่ยมที่มีขนาดต่างกัน และสตีลที่มีชั้นของเพอริไซเคลมที่ต่อลำเลียงมีการเรียงตัวของเซลล์ไซเลมสลับกับเซลล์โฟลเอ็มแบบรัศมี Watson and Dallwitz (2006) กล่าวว่า โครงสร้างภายในของ *I. balsamina* ประกอบด้วย เนื้อเยื่อต่อลำเลียงชั้นแรกที่มี

เนื้อเยื่อที่เป็นรูปร่างแหวน ดังนั้นท่อลำเลียงชั้นนอกจึงมีการเรียงตัวเป็นแบบรัศมี เนื้อเยื่อท่อลำเลียงชั้นถัดมาค่อนข้างหนาขึ้น ท่อน้ำประกอบด้วยเวสเซลล์ ที่มีรูปร่างเป็นซิคคัลลายเซลล์ตะแคงที่เป็นรูปตัว S Aras *et al.* (2007) รายงานการศึกษาตำแหน่งเม็คลีสแอนโทไซยานินใน *I. balsamina* ในเนื้อเยื่อ 5 ชนิดได้แก่ ข้อ ปล้อง ก้านใบ ก้านดอก และกลีบดอก พบว่า เม็คลีสมีอยู่มากในเนื้อเยื่อของ ข้อใบ และพบในปริมาณน้อยในเนื้อเยื่อส่วนปล้อง การเกิดสีแดงในกลีบดอกเป็นผลมาจากการสะสมสารแอนโทไซยานินปริมาณมากภายในแวคคิวโอลของ พาพิเลด อีพิเดอมอลต์ เซลล์ จารุภัทร (2549) ได้ศึกษาลักษณะทางกายวิภาควิทยาของช้างผสมโคลง (*Eulophia graminea* Lindl.) รายงานว่าเนื้อเยื่อของลำต้นมีระบบเนื้อเยื่อในลักษณะเดียวกันกับพืชใบเลี้ยงเดี่ยวโดยทั่วไป แต่เนื้อเยื่อพื้นในชั้นคอร์เทกซ์ที่อยู่ในบริเวณรอบนอกเป็นเซลล์สเคลอเรนคิมา และเกิดในแนวรัศมีเห็นเป็นขอบเขตที่ชัดเจน ส่วนเนื้อเยื่อพื้นด้านในของ คอร์เทกซ์เป็นเซลล์พาเรงคิมาที่มีรูปร่างกลมหรือหลายเหลี่ยม เซลล์ด้านในมีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ด้านนอก และปรากฏช่องว่างระหว่างเซลล์ในบางบริเวณ มีมัดท่อลำเลียงซึ่งเป็นแบบท่อลำเลียงเฉียงข้าง และที่เนื้อเยื่อผิวพบปากใบด้วย Watson and Dallwitz (2006) กล่าวว่าสำหรับ *I. balsamina* เป็นพืชที่มีปากใบ โดยบริเวณขอบใบมีช่องเปิดสำหรับคายน้ำ ภายในมีไซฟิลล์ของใบพบผลึกของ calcium oxalate ที่เป็นรูปเข็ม เส้นแขนงของใบพบตามเนื้อเยื่อของมัดท่อลำเลียงอาหาร (phloem) โดย Sood (1989) ศึกษาเอ็มบริโอของกล้วยไม้สกุล *Liparis* รายงานว่า ผนังอับเรณูขณะที่ยังอ่อนอยู่ประกอบด้วย ชั้นเซลล์ผิว 1 ชั้น ชั้นเซลล์เอนโดทีเลียม 1 ชั้น ชั้นกลาง 3 ชั้น และชั้นทาพีคัมที่ประกอบด้วยเซลล์ที่มีนิวเคลียส 1 อัน เมื่ออับเรณูโตเต็มที่เซลล์ของชั้นใต้เซลล์ผิว 2 - 3 ชั้นเกิดการสร้างและสะสมใยให้หนาขึ้นทำให้ ผนังอับเรณูมีความหนา

5.2 เซลล์พันธุศาสตร์ของพืช

ความผันแปรทางพันธุกรรม เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการปรับปรุงพันธุ์และการคัดเลือกพันธุ์ เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงจำนวนโครโมโซมเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติ และสามารถชักนำให้เกิดขึ้นได้ตามความต้องการ (นิตยศรี, 2542) Song *et al.* (2003) ศึกษาจำนวนโครโมโซมของ *I. balsamina* ตามสภาพลักษณะทางภูมิศาสตร์ พบว่าต้นพืชที่มี $x = 7$ และ 8 พบในอัฟริกา $x = 7, 8$ และ 10 พบในอินเดียตอนใต้และ ศรีลังกา $x = 7, 9$ และ 10 พบในหิมาลัย $x = 7, 8, 9$ และ 10 พบทางเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ $x = 10$ พบในคอนเทินของเอเชีย ยุโรป และอเมริกาเหนือ Van Went (1981) พบว่าสามารถบ่งชี้ถึงการเป็นหมันของ *I. wallerana* ได้จาก ในเซลล์ต้นกำเนิดของละอองเรณูและ เซลล์ที่พัฒนาเป็นเกสรเพศผู้ ตั้งแต่การแบ่งตัวจากกระยะ tetrad ไปเป็นเรณู Ishizaka and Usmatsu (1994) พบว่าจำนวนโครโมโซมของลูกผสม cyclamen ระหว่าง *C. persicum* $2n = 48$ กับ *C. hederifolium* $2n = 34$ พบว่ามีจำนวนโครโมโซม $2n = 41$ และเมื่อนำเมล็ดของลูกผสมนี้ไปเพิ่ม

จำนวนโครโมโซมด้วยโคลชิซิน 0.5 เปอร์เซ็นต์ ลูกผสมที่ได้เป็น amphidiploid ที่มีจำนวนโครโมโซม $2n = 82$ Chunsheng and Bridgen (1997) ศึกษาความเป็นหมันของลูกผสมระหว่าง *Alstroemeria aurea* x *Alstroemeria carphyllaea* การเพิ่มชุดโครโมโซมโดยใช้โคลชิซิน 0.2 - 0.6 เปอร์เซ็นต์ พบว่า สามารถชักนำให้จำนวนโครโมโซมเพิ่มชุดเป็นแบบ aneuploidy ได้ 87.5 เปอร์เซ็นต์ โดยมีโครโมโซม $2n = 16 - 18$ อติศร (2535) กล่าวว่าเบญจมาศที่ปลูกเป็นการค้าส่วนใหญ่มีจำนวนโครโมโซม 54 แท่ง และเป็น hexaploid โดยมีจำนวนโครโมโซมพื้นฐาน = 9 แต่แปรผันได้ตั้งแต่ไม่น้อยกว่า 45 จนถึงมากกว่า 100 ชยาภรณ์ (2547) รายงานการ ศึกษาจำนวนโครโมโซม ปลายราก คาร์เนชั่นของต้นพ่อแม่พันธุ์เปรียบเทียบกับต้นลูกผสมจำนวน 10 สายพันธุ์ พบว่าทั้งหมดมีจำนวนโครโมโซม เท่ากันคือ $2n = 30$ ศรีสกุล (2539) รายงานผลการนับจำนวนโครโมโซมของ บีโกเนีย 6 ชนิดพบว่า *Begonia acetosella* Craib, *B. acetosella* Craib, และ *B. acetosella*, Craib มีจำนวนโครโมโซมเท่ากันคือ $2n = 20$ ส่วน *B. garettii* Craib, และ *B. integrifolia* Dalz. มีจำนวนโครโมโซม $2n = 18$ ส่วน *B. yunannensis* มีจำนวนโครโมโซม $2n = 28$

5.3 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตและการออกดอกของพืช

นันทิยา (2545) กล่าวว่า สภาพแวดล้อมได้แก่ อุณหภูมิ แสง ความชื้นและวัสดุปลูก มีผลต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพของดอกของพืช โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *I. wallerana* อยู่ระหว่าง $21 - 24^{\circ}\text{C}$ (Corr, 1997) Riffle (1998) กล่าวว่า *I. wallerana* ต้องการความเข้มแสงในการงอกของเมล็ดประมาณ 108 ลักซ์ แต่ในระยะหลังการงอกหรือระยะต้นกล้าต้องการความเข้มแสงระหว่าง 1,000 - 2,500 ลักซ์ และในช่วงที่ต้นพืชมีการเจริญเติบโตทางลำต้นต้องการความเข้มแสงระหว่าง 11,000 - 27,000 ลักซ์ โดยมีความยาววันเฉลี่ยที่ 8 - 12 ชั่วโมง และ Reimherr (1984) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิและความยาววันที่มีต่อการออกดอกของ *I. repens* พบว่าที่อุณหภูมิระหว่าง $18 - 20^{\circ}\text{C}$ และความเข้มแสงที่ 100 ลักซ์ 5 ชั่วโมง / คืน ทำให้ *I. repens* ออกดอกเร็วขึ้น และออกดอกพร้อมกัน Adams et al. (1999) รายงานว่าการให้ความยาววันที่ 17 ชั่วโมง มีผลทำให้พิทูเนียสายพันธุ์ Malve ออกดอกเร็วขึ้น โดยใช้เวลาเพียง 48 วัน ขณะที่ความยาววัน 8 ชั่วโมงใช้เวลาถึง 97 วัน และความยาววัน 17 ชั่วโมง มีผลทำให้จำนวนกิ่งลดลงแต่ลำต้นยืดยาวขึ้น โดย Bailey (1992) พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการพัฒนาตาดอกไฮเดรนเยียได้แก่ อุณหภูมิที่ต่ำและสภาพวันสั้น โดย อุณหภูมิกลางวันมากกว่า 22°C ความยาววันตั้งแต่ 8 - 12 ชั่วโมงจะกระตุ้นการสร้างตาดอก แต่ถ้าความยาววันมากกว่า 16 ชั่วโมงจะไม่มีการสร้างตาดอก สำหรับในไม้ดอกประเภทหัว สืบศักดิ์ (2548) ศึกษาผลของอุณหภูมิและสภาพความยาววันที่มีต่อการเจริญเติบโตและการบานดอกของ *Onithogalum thrysoides* ที่ได้รับอุณหภูมิ 9°C นาน 0 2 4 และ 6 สัปดาห์ร่วมกับการให้

วันยาว 8 12 และ 16 ชั่วโมง พบว่า ที่อุณหภูมิ 20 °C ให้ความสูง จำนวนใบ การแตกกอ และจำนวนดอกมากที่สุด ในขณะที่สภาพวันยาวไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช

Innes (1995) พบว่าเทียนในกลุ่ม *I. niarniamensis* เจริญได้ดีในวัสดุปลูกที่มีความเป็นกรดเล็กน้อย และระบายน้ำดี Corr (1997) กล่าวว่าเทียนต้องการความชื้นสูงและเจริญได้ดีในดินที่มีอินทรีย์วัตถุสูง Smith and Fisher(2004) ศึกษาผลของความเป็นกรด - ด่าง ในวัสดุปลูกที่ประกอบด้วย peat 70 % : perlite 30 % เติมโดโลไมท์ เพื่อปรับความเป็นกรด - ด่าง ให้ได้ระหว่าง 4.4 ถึง 7.0 ร่วมกับธาตุอาหารรอง ที่มีต่อการเจริญเติบโต และปริมาณรังควัตถุใน *I. wallerana* และ พิทูเนีย พบว่า วัสดุปลูกที่มีค่าความเป็นกรด - ด่าง ที่มากกว่า 5.3 มีผลทำให้การสะสมคลอโรฟิลล์และ แคโรทีนอยด์ลดลง ทั้งนี้ Van Iersel *et al.*(1998) ศึกษาผลของการให้ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และ โพแทสเซียม ในระยะก่อนและหลังการย้ายปลูกในเทียนนิวกินี และพิทูเนีย โดย ผันแปรความเข้มข้นของ ไนโตรเจนที่ระดับ 8 - 32 มิลลิโมล ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ตั้งแต่ 0.25 - 20 มิลลิโมล พบว่าพืชมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ในไนโตรเจน ระหว่าง 24 - 32 มิลลิโมล ในขณะที่ ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม มีผลต่อการเจริญเติบโตเพียงเล็กน้อย ต่อมา Stroka and Nowak (2001) ศึกษาผลของฟอสฟอรัส ที่มีต่อการเจริญเติบโตและการสะสมคลอโรฟิลล์ของเทียนนิวกินี สายพันธุ์ “ Pogo Pogo ” พบว่าฟอสฟอรัสมีผลต่อ ความสูง ขนาดลำต้น จำนวนดอก จำนวนใบ และสีของใบ Kimberly (2001) ศึกษาผลของวัสดุปลูกและปริมาณความชื้นที่มีต่อการออกดอกของ *I. wallerana* สายพันธุ์ Accent Red โดยผันแปรปริมาณวัสดุที่ผสมด้วย biosoled และ yard trimming 4 ระดับ ร่วมกับความถี่ในการให้น้ำ 3 ระยะ พบว่าเทียนที่ปลูกในวัสดุที่มี biosoled ที่ 30 , 60 และ 100 เปอร์เซ็นต์ และให้น้ำทุกวัน ให้ผลต่อขนาดลำต้นและจำนวนดอกที่ดีกว่าชุดควบคุม Broschat and Moore (2004) ศึกษาความเป็นพิษของธาตุอาหารรองได้แก่ เหล็ก , แมงกานีส , สังกะสี , และ ทองแดง ที่มีต่อดาวเรือง และเจอร์ราเนียม โดยเหล็ก แบ่งออกเป็น 5 ชนิด พบว่า FeEDTA และ FeEDPA แสดงความเป็นพิษอย่างสูงต่อพืชทั้ง 2 ชนิด ที่ความเข้มข้น 2 และ 4 มิลลิโมล โดยทำให้ความเป็นกรด - ด่าง ของวัสดุปลูกสูงขึ้น Gaur and Gaur (2000) ศึกษาผลของ *Arbuscular mycorrhizal* ในวัสดุปลูกที่มีอินทรีย์วัตถุสูง ในเทียน และพิทูเนีย พบว่า *A. mycorrhizal* มีผลทำให้จำนวนดอก และน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้น เจริญเติบโตได้ดีกว่า ออกดอกได้ก่อนประมาณ 15 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม Borch and Miller (2003) ศึกษาสภาพความเครียดจากความแห้งแล้งของดาวเรือง ที่ปลูกในสภาวะที่ธาตุฟอสฟอรัส ลดลง ในรูปของ อลูมิเนียม บัฟเฟอร์ (AI-P) 2 ระดับคือ 21 มิลลิโมล และ 5 ไมโครโมล พืชที่ได้รับ AI-P 21 มิลลิโมล มีน้ำหนักแห้งของต้นและ จำนวนดอกมากกว่า แต่มีพื้นที่ใบลดลง

McAbee *et al.* (2005) ศึกษากลไกการพัฒนาอวูลในพืชสกุลเทียนพบว่า ใน *I. sodenii* อวูลจะเริ่มพัฒนา จากโคนของวงเกสรเพศเมียโดยรกรอบแกนร่วม จากนั้นอวูลจะเจริญโค้งงอขึ้นสู่ โคนก้านเกสรเพศเมีย ก่อนการชักนำให้เกิดเป็นผนังอวูล ต่อมา Narayana (1965) รายงานการพัฒนาผนังอวูลทั้งด้านนอกและด้านในของ *I. hookeriana* ว่าจะเกิดขึ้นพร้อมๆกับระยะการพัฒนา ดอก สอดคล้องกับ Takao (1996) ที่กล่าวว่า การพัฒนาผนังอวูลในเทียนชนิด *I. balsamina* เริ่มจากผนังอวูล 1 ด้าน ที่พัฒนาเป็นสองแฉกในระยะพัฒนาดอก ทั้งนี้ Bouman and Boesewinkel (1991) กล่าวว่า การพัฒนาของผนังอวูลของ *I. niarniamensis* ในระยะการออกดอก เริ่มต้นจาก เซลล์เดี่ยวๆของผนังอวูล สำหรับในขบวนการสร้างดอก Salibuly (1966) ได้กล่าวถึงการสร้าง ดอกของพืชโดยทั่วไปว่า แบ่งออกได้เป็น 5 ระยะด้วยกันคือ

1. ระยะชักนำให้เกิดดอก (Floral induction) เมื่อพืชเจริญเติบโตเต็มที่พร้อมที่จะให้ดอก ปัจจัยทางพันธุกรรมและสภาพแวดล้อมจะมีผลในการกระตุ้นให้เกิดการสร้างดอกขึ้น โดยจะเปลี่ยน สภาพจากเนื้อเยื่อเจริญทางใบเป็นเนื้อเยื่อเจริญทางดอก

2. ระยะเริ่มกำเนิดดอก (Floral initiation) ระยะนี้เป็นระยะของการสร้างจุดกำเนิดดอก (floral primordia) หรือช่อดอกโดยขึ้นอยู่กับชนิดพืชว่าพืชชนิดนั้นมีดอกแบบเดี่ยวหรือแบบช่อ

3. ระยะสร้างอวัยวะดอก (Floral organogenesis) ระยะนี้เป็นระยะที่จุดกำเนิดดอกขยาย ขนาดและเกิดจุดกำเนิดของอวัยวะซึ่งเป็นส่วนประกอบของดอก ซึ่งต่อมาจุดกำเนิดเหล่านั้นเจริญไป เป็นส่วนประกอบของดอกคือ กลีบเลี้ยง กลีบดอก เกสรเพศผู้และเกสรเพศเมีย การสร้างอวัยวะ ของดอกส่วนใหญ่เริ่มจากวงนอกสุดคือคือวงกลีบเลี้ยงเข้าสู่วงใจกลางดอก คือวงเกสรเพศเมีย แต่ใน พืชบางชนิดลำดับของการสร้างอวัยวะของดอกอาจแตกต่างกันออกไป

4. ระยะการเจริญเติบโตของดอก (Floral maturation and growth) ระยะนี้เป็นระยะของ การเจริญเติบโตของอวัยวะของดอกโดยการขยายขนาดและมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาเพื่อการ เจริญอย่างเต็มที่ของอวัยวะแต่ละส่วน

5. ระยะบานดอก (Anthesis) เมื่ออวัยวะของดอกเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว ดอกดังกล่าวจึงเข้าสู่ ระยะบานดอกและระยะพร้อมผสมของเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมีย

6. การปรับปรุงพันธุ์พืช

6.1 วิธีมาตรฐาน

ดาวรุ่งและคณะ (2546) กล่าวว่า จุดมุ่งหมายเบื้องต้นของนักปรับปรุงพันธุ์คือ พัฒนาสาย พันธุ์ใหม่ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อมนุษย์และเศรษฐกิจ เช่น ลักษณะความแข็งแรง การต้านทานต่อ โรคและแมลง ความสามารถที่จะเจริญในสภาพที่แห้งแล้งได้ รวมทั้งคุณภาพและปริมาณของ

ผลผลิต Arisumi (1987) พบว่าเทียนสามารถผสมข้ามสกุลได้ ผลจากการศึกษาทำให้ได้เทียนพันธุ์ การค้า ซึ่งเป็นลูกผสมระหว่าง *I. auricoma* x *I. sultani* (*I. wallerana*.) cv. Elfin White ระหว่าง *I. uguenensis* x *I. flaccida* และระหว่าง *I. flaccida* x *I. repen* ทั้งนี้ Oliver (1987) อ้างโดย นันทิยา (2545) ได้นำ *I. oncidoides* ซึ่งมีดอกสีเหลืองจาก Cameron Highland ประเทศมาเลเซียไปปรับปรุง พันธุ์ได้ลูกผสมเทียนฝรั่งสีเหลืองสายพันธุ์ Sea Shell Merlin and Grant (1986) ศึกษาการผสมข้าม ระหว่างลูกผสมที่ได้จาก *I. gordonii* x *I. usambarensis* พบว่า สามารถผสมข้ามกับ *I. wallerana* ได้ในขณะที่ลูกผสมของ *I. wallerana* x *I. gordonii* นั้นพบลักษณะที่มีความผิดปกติของเซลล์ สืบพันธุ์มากกว่าคู่ผสมของ (*I. gordonii* x *I. usambarensis*) x *I. wallerana* เนื่องจากลักษณะทาง สันฐานวิทยาของ *I. usambarensis* นั้นมีความคล้ายคลึงกันกับ *I. wallerana* มากกว่า Tian et al. (2004) ศึกษาผลของนิเวศวิทยาที่มีต่อการถ่ายละอองเรณูของพืชสกุลเทียน ของประเทศจีนกับเทียน ที่อยู่ในหมู่เกาะสุมาตรา พบว่าความมีชีวิตของเรณูจะสูงที่สุดในวันที่อับเรณูเริ่มเปิด และหลังจากนั้น จะลดลงเรื่อย ๆ การติดเมล็ดอยู่ระหว่าง 0.857 ถึง 0.873 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลอง ต่อมาของเขา ที่ศึกษาเกี่ยวกับ ความมีชีวิตของเรณูของ *I. raptans* โดยการผสมข้าม พบว่ามีช่วงความ เหมาะสมของสภาพแวดล้อมที่แคบ มีเปอร์เซ็นต์การงอกของเรณูที่ต่ำ

Booth(1984) กล่าวว่า ไฮเดรนเยียที่ปลูกในประเทศฝรั่งเศส มาจากการผสมระหว่าง *H. maritima* สายพันธุ์ Joseph Bank และ *H. macrophylla* สายพันธุ์ Otaksa , Rosea , Mariesii และ Veitchii รวมไปถึง *H. japonica* ที่มีการนำไปปรับปรุงพันธุ์ร่วมกับ *H. acuminata* และ *H. thunbergii* ซึ่งไฮเดรนเยียทั้ง 5 ชนิดนี้ มีลักษณะเด่นเฉพาะที่แตกต่างกันไป Takamura et al. (1995) รายงาน ว่า การผสม cyclamen แบบสลับพ่อแม่ ระหว่างดอกที่มีสีขาวยและดอกสีเหลือง ให้ลูกในรุ่น F₁ เป็น สีขาวทั้งหมด เมื่อให้ผสมตัวเองในรุ่น F₁ ลูกที่ได้ในรุ่น F₂ แสดงสีดอกเป็นสีขาวสีเหลือง โดยมี สัดส่วนเป็นไปตามกฎของเมนเดล ดังนั้นยีนที่ควบคุมสีเหลืองใน cyclamen จึงเป็นยีน 1 คู่ ซายากรณ์ (2547) รายงานการผสมตัวเองและผสมข้ามภายในกลุ่มระหว่างคาร์เนชั่นดอกช่อและกลุ่ม ดอกเดี่ยวจำนวน 72 คู่ผสม โดยการผสมแบบพบกันหมด พบว่าในกลุ่มดอกช่อเท่านั้นที่ผสมติด และ ลูกผสมที่ได้มีความผันแปรของสีดอก โดยแต่ละคู่แสดงอาการข้มไม่สมบูรณ์ รุ่งนภา (2540) ศึกษา การผสมโป๊ยเซียนทั้งการผสมตัวเองและการผสมข้าม พบความผันแปรของรูปร่างดอก ใบ และ หนามของลูกผสมเพราะ โป๊ยเซียนเป็นพืชผสมข้ามที่มียีนแบบ Heterozygous มนต์ระวี (2544) รายงานผลการศึกษการผสมอังกาบ 2 ชนิด 4 สายพันธุ์ คือสีม่วง สีขาว สีม่วงแถบขาว และสีแดง จำนวน 16 คู่ผสม พบว่าพันธุ์สีแดงเท่านั้นที่ผสมตัวเองได้ สำหรับการผสมข้ามต้องใช้พันธุ์สีแดง เป็นต้นพ่อแม่และต้องใช้วิธีเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ เนื่องจากฝักฝ่อหลังการพัฒนาไปได้เพียง 24 วัน ลูกผสมที่ได้ไม่เป็นไปตามกฎของเมนเดล และยังได้ลูกผสมที่มีรูปแบบการเจริญในลักษณะต่างๆ

6.2 การเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ

การผสมระหว่างพืชต่างชนิดหรือต่างสกุล (interspecific and intergeneric hybridization) มีวัตถุประสงค์เพื่อสร้างความผันแปรทางพันธุกรรมให้เพิ่มขึ้น จะทำให้ได้พืชที่มีลักษณะใหม่ๆ (Allard, 1964) การผสมข้ามชนิดมีประโยชน์ในไม้ดอกไม้ประดับ เพราะสามารถขยายพันธุ์โดยใช้ส่วนอื่นๆ ได้โดยไม่ต้องใช้เมล็ดจึงเป็นการจัดปัญหาการผลิตเมล็ด (ไพศาล, 2526) การผสมข้ามชนิดระหว่างพืชที่มีจำนวนโครโมโซมแตกต่างกัน การปฏิสนธิจะประสบผลสำเร็จถ้าใช้ต้นแม่ที่มีจำนวนโครโมโซมสูงกว่าต้นพ่อ เช่นการผสมระหว่าง *Solanum tuberosum* (4X) และ *Solanum phureja* (2X) (นิตยศรี, 2541) Andrade-Aguilar and Jackson (1988) ศึกษาการผสมข้ามชนิดระหว่าง *Phaseolus vulgaris* L. (common bean) และ *P. acutifolius* A. Gray (tepary bean) พบว่าการผสมสำเร็จเมื่อใช้ *P. vulgaris* เป็นต้นแม่แล้วนำเอ็มบริโอของลูกผสมที่ได้มาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อพบว่า ต้นลูกผสมที่ได้มีการเจริญเติบโตใกล้เคียงกับต้นแม่ (*P. vulgaris*) แต่มีลักษณะใบใกล้เคียงกับ *P. acutifolius* ซึ่งเป็นต้นพ่อ

การผสมข้ามระหว่างชนิดของพืชมักไม่ประสบความสำเร็จ เนื่องจากมีปัญหาละอองเรณูไม่สามารถงอกเข้าไปในถุงเอ็มบริโอ การไม่เข้ากันระหว่างเกสรตัวเมียและระหว่างละอองเรณู ถึงแม้ว่าการปฏิสนธิจะเกิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ไซโกตไม่อาจพัฒนาไปเป็นพืชลูกผสมที่สามารถเจริญเติบโตได้อย่างปกติ เนื่องจาก incompatibility gene หรือเอ็มบริโอไม่สามารถใช้อาหารจากเอนโดสเปิร์มทำให้เอ็มบริโอไม่สามารถพัฒนาต่อไปได้อย่างปกติ (Welsh, 1979) ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอในอาหารสังเคราะห์ที่มีส่วนประกอบคล้ายกับในเอนโดสเปิร์ม จึงเป็นวิธีการช่วยชีวิตเอ็มบริโอลูกผสม (Gill et al. 1981) เมื่อเอ็มบริโอที่นำไปเลี้ยงมีความต้องการอาหารมากขึ้น อาจต้องเติมน้ำมะพร้าว หรือเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเป็น 8 – 12 เท่าการให้ฮอร์โมนออกซินและไซโตไคนินในปริมาณที่เหมาะสมก็ช่วยให้เอ็มบริโอเจริญเติบโตได้ (Van Tuyl, 1997) Gonzulea and Ford-Lloyd (1987) ใช้เทคนิค *in ovulo* embryo rescue สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเอ็มบริโอหอมลูกผสม, *Allium cepa* กับ *A. fistulosum* พบว่าประสบความสำเร็จประมาณ 70 % Boyd and Dale (1996) เพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ *Poa pratensis* L. โดยนำเอ็มบริโอระยะที่เจริญเติบโตเต็มที่มาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาล 30 ก/ล casein hydrolysate (CH) 100 มก/ล 6-benzylaminopurine (BAP) 0.2 มก / ล ปรับค่าความเป็นกรด – ด่างให้อยู่ในช่วง 5.7 – 5.8 เลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิที่ 25 ° ซ ใช้เวลาเลี้ยงประมาณ 60 วัน แล้วย้ายต้นกล้าออกจากหลอดแล้วนำไปปลูกในกล่องเก็บความชื้นที่มีวัสดุปลูกคือ ทรายที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว Mathias et al. (1990) ประสบผลสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอลูกผสมที่ได้จาก การผสมข้ามชนิดระหว่าง *Cuphea pauciflora greenwoodii* กับ *C. laminiifera* 5 - 6 วันหลังจากการผสมติดนำไปฆ่าเชื้อและเอาเฉพาะ

เอ็มบริโอออกมาเลี้ยงในอาหารและอาหารเหลว (solid/liquid double layer) โดยมีธาตุอาหารหลัก และวิตามินสูตร NN (Nitsch and Nitsch, 1967) ส่วนธาตุอาหารรองใช้สูตร MS หลังจากการเลี้ยงได้ ประมาณ 10 วัน ย้ายไปเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่ใส่ฮอร์โมนแต่ใส่ activated charcoal 0.5 เปอร์เซ็นต์ เพื่อคอยดูดซับเอาสารพิษออกมาจากเนื้อเยื่อ



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved