

## บทที่ 2

### การตรวจเอกสาร

พืชสกุลกระเจียว (*Curcuma*) จัดอยู่ในตระกูล Zingiberaceae คำว่า *curcuma* มาจากคำว่า *kurkum* ซึ่งเป็นภาษาอราบิก หมายถึง ขมิ้น (*turmeric*) (Everett, 1972) พืชสกุลนี้มีมากกว่า 70 ชนิด (Purseglove, 1972) มีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชียเขตร้อน เช่น ในประเทศอินเดีย ไทย เมียนมา และหมู่เกาะของประเทศมาเลเซีย เป็นต้น และบางชนิดพบในแอฟริกาเขตร้อน (Hooker, 1894 ; Bailey, 1961 และ Graf, 1982) เป็นพืชหัว มีลำต้นใต้ดิน สีภายในของหัวเป็นสีเหลืองเข้ม เหลือง หรือขาว ตัวอย่างเช่นขมิ้น ซึ่งใช้ประโยชน์ในการประกอบอาหารใช้ในพิธีการต่าง ๆ ของชาวอินเดีย เช่น การเกิด การแต่งงาน ใช้เป็นสีย้อม ใช้ทำกระดาษขมิ้น ใช้ทางการแพทย์ (Purseglove, 1972) ดอกของพืชในสกุลนี้มีหลายสี เช่น สีม่วง ขาว ชมพู เป็นต้น (Hooker, 1894)

### ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ทั่วไป

กระเจียวเป็นพืชเนื้อไม้ยืนต้นที่มีอายุหลายปี (herbaceous perennial) มีลักษณะทั่วไปดังนี้

**ลำต้น** เป็นลำต้นใต้ดินแปรรูปแบบ rhizome (หัว) กระเจียวบางชนิดมีรากสะสมอาหาร (tuberous root) (Bailey, 1961 และ Graf, 1982)

**ใบ** เป็นแบบ lamina lanceolate หรือ oblong มักมีขนาดใหญ่ มีใบสีเขียวจำนวน 6-10 ใบ ก้านใบจะรวมตัวกันอยู่เป็นลำต้นเทียม (pseudostem) ซึ่งบางชนิดมีความสูงถึง 1 ม (เมตร) (Purseglove, 1972)

ช่อดอก ตำแหน่งของการเกิดช่อดอกแตกต่างกันไปตามชนิด ช่อดอกอาจเกิดระหว่าง กลางกลุ่มใบ เกิดบริเวณโคนของกลุ่มใบแยกออกมาหรือเกิดโดยตรงจากหัว (Purseglove, 1972) ช่อดอกเป็นแบบ spike ประกอบด้วย bract ที่มีสีต่าง ๆ แยกต่างตามชนิดรวมตัวกันอยู่ แน่น bract มีลักษณะ ovate กระเจียวบางชนิดมี bract ทางด้านล่างของช่อดอกสั้นและกว้าง กว่า bract ที่อยู่สูงขึ้นไป และ bract ด้านบนสุดมีลักษณะเรียวยาวและเล็ก (Santapau, 1952) bract หุ้มดอกจริงที่มีอายุการบานสั้นไว้ จำนวน 2 ดอก หรือมากกว่า bract ด้าน ปลายช่อดอกไม่มีดอกจริงอยู่ (Hooker, 1984 ; Bailey, 1966 และ Ridley, 1967)

ดอก ประกอบด้วยวงกลีบเลี้ยง (calyx) และวงกลีบดอก (corolla) โคนกลีบดอก รวมตัวกันมีลักษณะเป็นหลอด วงกลีบเลี้ยงสั้นแยกเป็น 2-3 กลีบ วงกลีบดอกแยกเป็น 3 ส่วน ไม่เท่ากัน ส่วนที่เป็นปาก (labellum) สันนิษฐานว่าแปรรูปมาจาก stamen 3 อัน มี stamen 1 อัน ที่มีเกสรตัวผู้ที่สมบูรณ์ ก้านเกสรตัวผู้สั้น อับละอองเกสรเมื่อแก่จะแตกออกตามยาว (Purseglove, 1972) รังไข่มี 3 ช่อง มีไข่มาก (Hooker, 1894) ก้านเกสรตัวเมีย มีลักษณะพอมบางเป็นเส้นยาวขึ้นไปตามก้านเกสรตัวผู้แล้วยอดเกสรตัวเมีย (stigma) แทรกอยู่ ระหว่างกลางอับละอองเกสร (Purseglove, 1972) ยอดเกสรตัวเมียแยกเป็น 2 ส่วน และมีขนโดยรอบ (Hooker, 1894)

ฝัก ฝักเป็นแบบ capsule มีลักษณะกลมและมีผนังบาง ใส เมื่อแตกออกจะแบ่งได้เป็น 3 ส่วน เมล็ดมีรูปร่าง ovoid หรือ oblong ตามปกติเมล็ดเป็นแบบ arillate (Hooker, 1894 และ Bailey, 1961)

#### การจำแนกชนิด

การจำแนกชนิดของพืชตระกูลกระเจียวทำได้ค่อนข้างยาก และเมื่อทราบชนิดแล้วยังมี การจัดแบ่งกลุ่มออกเป็นอีก 3 กลุ่ม ดังที่ Hooker (1894) ได้จัดไว้ดังนี้

Section I Exantha Horan. มีดอกในฤดูร้อน ดอกเกิดก่อนใบ โดยที่ก้านช่อดอกมี bract แบบ scariosse หุ้มอยู่

Curcuma ที่จัดอยู่ใน section นี้ มีดังนี้

C. angustifolia Roxb. (indian arrowroot)

C. neilgherrensis Wight

C. aromatica Salisb. (ว่านนางคำ, wild turmeric, yellow zedoria)

C. zedoaria Rosc. (ขมิ้นชัน, ขมิ้นน้อย, zedoary, long zedoary)

C. elata Roxb.

C. comosa Roxb. (ว่านชักมดลูก)

C. latifolia Rosc.

C. leucorhiza Roxb.

C. caesia Roxb. (black zedoary)

C. aeruginosa Roxb. (ว่านมหาเมฆ, กระเจียว)

C. amarissima Rosc. (ขมิ้นชม)

C. ferruginea Roxb.

C. rubescens Roxb.

Section II Mesantha Horan. ช่อดอกเกิดในฤดูใบไม้ร่วง โดยเกิดจากบริเวณ

กลางของกลุ่มใบ ปลาย bract ไม้มันไปด้านหลัง

Curcuma ที่จัดอยู่ใน section นี้ มีดังนี้

C. attenuata Wall.

C. plicata Wall.

C. amada Roxb. (mango ginger)

C. longa Linn. C. domestica Valetton (ขมิ้น turmeric)

C. montana Rosc.

C. kuntleri Baker

C. reclinata Roxb.

C. decipines Dalz.

C. albiflora Thw.

C. oligantha Thimen.

Section III Hitcheniopsis Baker ช่อดอกเกิดในฤดูใบไม้ร่วง เกิดจาก บริเวณกลางของกลุ่มใบ bract มีลักษณะบ้านมาก ด้านข้างของ bract เชื่อมติดกัน ส่วนปลาย bract แผลออกไป

Curcuma ที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้ ได้แก่

C. parviflora Wall.

C. strobilifera Wall.

C. grandiflora Wall.

C. petiolata Roxb. (queen lily)

C. roscoeana Wall. (กระเจียวแดง, hidden lily)

ปัจจุบันยังมี Curcuma อีกหลายชนิดที่ยังไม่ได้มีการจัดแบ่งให้อยู่ในกลุ่มใดกลุ่มหนึ่งข้างต้น เช่น C. cordata Wall.  
C. mangga Wall.  
C. ranthorrhiza Roxb.

สำหรับ C. roscoeana Wall. นั้นสามารถแยกออกจาก Curcuma ชนิดอื่นได้ง่าย เนื่องจากช่อดอกมี bract สีส้มสดแตกต่างจากชนิดอื่นอย่างชัดเจน C. roscoeana Wall. เป็นไม้พุ่ม perennial herb มี tuberous root ใบรูปร่างแบบ lanceolate หรือ oblong โดยฐานใบบ้าน ปลายใบแหลม มีใบ 6-8 ใบ ก้านใบยาว 1/2 - 1 1/2 ฟ (ฟุต) ใบมีขนาด 6-12 น (นิ้ว) ใบมีสีเขียว มีเส้นใบสีเขียวเข้มกว่า ก้านช่อดอกมีขนาดสั้นทึมไว้ด้วย ก้านใบ ช่อดอกยาว 6-8 น เส้นผ่าศูนย์กลาง 2-3 น bract มีลักษณะบ้านมาก ด้านโคนของ bract เชื่อมติดกันส่วนปลายแผลออก bract ทั้งหมดมีสีส้มสด รูปร่างและขนาดเหมือนกันตลอด ช่อดอก ดอกมีความยาวเท่า ๆ กับ bract มีสีขาวปนเหลือง มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1/2 น แต่ละส่วนของดอกมีรูปร่างแบบ oblong มีขนาดเท่า ๆ กัน limb มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1/2 น lip ไม่มีรอยหยักมีสีเหลืองสด staminode มีรูปร่าง oblong. (Hooker, 1894 และ Graf, 1982) (ภาพที่ 1 หน้า 7)



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ภาพที่ 1 ช่อดอกของกระเจียวแดง (*Curcuma roscoeana* Wall.)

Copyright © by Chiang Mai University  
All rights reserved

## สภาพการปลูกเลี้ยงโดยทั่วไป

อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการปลูก *Curcuma* ควรอยู่ระหว่าง 16-18 °C (องศาเซลเซียส) ในเวลากลางคืน และ 27-30 °C ในเวลากลางวัน ส่วนในระยะเวลาที่หัวมีการพักตัวควรได้รับอุณหภูมิที่ต่ำกว่า (Graf, 1972) สำหรับ *C. roscoeana* Wall. นั้นชอบความชื้นในบรรยากาศประมาณ 75% (Eliovson, 1968) เครื่องปลูกควรมีการระบายน้ำดี มีความอุดมสมบูรณ์ดี ซึ่งอาจเป็นส่วนผสมของดินร่วนและพีท (peat) บนทรายหยาบหรือถ่าน (Everett, 1972) หรือดินร่วน ใบไม้ผุ และ peat (Bailey, 1961)

Purseglove (1972) รายงานว่า *Curcuma* บางชนิด คือ *C. longa* ขึ้นได้ในสภาพป่าผลัดใบแถบมรสุมมีปริมาณน้ำฝน 1,000-2,000 มม/ปี (มิลลิเมตรต่อปี) แต่ก็สามารถปลูกได้ในที่ที่มีปริมาณน้ำฝนมากกว่า 2,000 มม/ปี และสามารถปลูกได้ในที่สูง 2,000 ม(เมตร) บนเทือกเขาหิมาลัย

## การขยายพันธุ์

การขยายพันธุ์ตามปกติสามารถทำได้โดยการแยกหัวใบปลุกหรือการแบ่ง rhizome โดยให้มีตาติด 1-2 ตา ปลูกลึกประมาณ 5-7.5 ซม (เซนติเมตร) (Purseglove, 1972) วิธีนี้ใช้ได้กับบางชนิดเท่านั้น เช่น ขมิ้น (*C. longa*)

## การขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การขยายพันธุ์พืชสกุลกระเจียวในสภาพปลอดเชื้อยังมีน้อยมาก รายงานแทบทั้งหมดเป็นผลการทดลองเกี่ยวกับพืชหัวที่เป็นที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายอยู่แล้ว โดยมีการขยายพันธุ์จากเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของพืช อาทิ ชิ้นส่วนของหัว ใบ ดอก รังไข่ และตา มีการใช้ส่วนประกอบของอาหารตลอดจนความเข้มข้นแตกต่างกันทั้งธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง สารอินทรีย์ สาร

กระตุ้นการเจริญเติบโต และยังมีการปรับสภาพแวดล้อม ตลอดจนเทคนิคที่แตกต่างกันไปตามชนิดของพืช ซึ่งพอจะจำแนกรายงานที่เกี่ยวข้องได้ตามชนิดพืชดังนี้

### ทิวลิป (Tulip)

Bancilhon (1975) พบว่าเมื่อเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของหัวทิวลิปบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่มี BA (benzyladenine) ความเข้มข้น  $10^{-7}$  M จะเกิดตาขึ้นได้

Riviere and Muller (1977) ได้รายงานการขยายพันธุ์โดยการเลี้ยงตาข้างในอาหาร พบว่าการเลี้ยงในที่อุณหภูมิ  $23^{\circ}\text{C}$  นาน 3 เดือน และที่อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  นาน 3 เดือน จะให้ผลดีกว่าการเลี้ยงที่อุณหภูมิ  $27^{\circ}\text{C}$  นาน 6 เดือน

ในปีเดียวกันนี้ Nishuichi and Myodo (1977) ได้ทำการขยายพันธุ์ทิวลิปหลายพันธุ์ โดยเลี้ยงส่วนของกลีบหัว (bulb scale) บนอาหารสูตร MS ที่มี NAA ( $\alpha$ -naphthalene-acetic acid) หรือ 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) พบว่าสามารถเกิดแคลลัสขึ้นได้ และในอาหารชนิดเดียวกันที่มี NAA 5 มก/ล (มิลลิกรัม/ลิตร) และ kinetin (6-furfuryl amino purine) 1 มก/ล หรือมี 2,4-D 1 มก/ล และ kinetin 1 มก/ล จะสามารถทำให้เกิดลักษณะคล้ายยอด (shoot-like protuberance) ขึ้นได้ ส่วน adventitious root เกิดขึ้นเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มีอัตราส่วนของ NAA ต่อ kinetin ที่เหมาะสม

ในปี 1981 Nishiuchi ได้ตัดตา (adventitious bud) ของทิวลิปพันธุ์ Apeldoorn ซึ่งเกิดจากการเลี้ยงชิ้นส่วนของกลีบหัวแล้วนำมาเลี้ยงในอาหารที่เติม NAA และ kinetin 0.3 และ 0.03 มก/ล ตามลำดับ พบว่าจะเกิดเนื้อเยื่อส่วนหนึ่งมีตาจำนวนมาก กำลังเจริญเติบโตอยู่ ซึ่งเมื่อย้ายต่อไปในอาหารสูตร MS ดัดแปลงจะไม่มีการสร้างหัว เว้นแต่จะได้แช่ชิ้นส่วนกลีบหัวนั้นที่อุณหภูมิ  $5^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 80-100 วันและอาหารที่ใช้มี pH 5 และปรับ NAA กับ kinetin ให้มีความเข้มข้นต่ำ และเติมน้ำตาล 4-6 % จึงจะเหมาะสม สำหรับทิวลิปพันธุ์ Golden Apeldoorn, Merry Widow และ Red Matador นั้นเมื่อนำเอารังไข่มา

เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี kinetin, 2,4-D, NAA, IAA (indoleacetic acid) หรือ IBA (indolebutyric acid) พบว่าการเจริญของรังไข่จะดีที่สุดในเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี kinetin 0.01-2 มก/ล ยกเว้นพันธุ์ Merry Widow ที่ไม่มีการเจริญไม่ว่าจะเลี้ยงบนอาหารใด (Paek, 1983)

ในปีถัดมา Alderson et al (1984) ได้นำกลีบหัวของทิวลิปพันธุ์ Merry Widow ซึ่งได้จากหัวที่เก็บไว้ในที่แห้งในอุณหภูมิ 17 °C บนอาหารสูตร MS ที่มีแร่ธาตุอาหาร วิตามิน Casein hydrolysate และ NAA ความเข้มข้นตั้งแต่ 0-5 มก/ล และ BA ความเข้มข้น 0-5 มก/ล พบว่าจะเกิดแคลลัสขึ้นได้ แต่การเกิดยอดนั้นเกิดได้ยากกว่าเมื่อเลี้ยงส่วนของก้านดอกซึ่งยอดจะเกิดขึ้นเป็นจำนวนสูงสุดเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มี NAA 1 มก/ล และ BA 1 มก/ล และสามารถชักนำให้เกิดการสร้างหัวบริเวณโคนยอดนั้นได้เมื่อเลี้ยงในที่ที่มีอุณหภูมิ 20 °C นาน 14-16 สัปดาห์ ตามด้วยอุณหภูมิ 8 °C นาน 8 สัปดาห์ และ 20 °C นาน 16 สัปดาห์ และหัวจะพัฒนาได้ดีเมื่อเลี้ยงยอดในอาหารที่มี GA<sub>3</sub> (gibberellic acid) หรือ GA<sub>4+7</sub> 1-10 มก/ล ตามด้วยการให้อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 8-10 สัปดาห์

Kawa and Saniewski (1986) ได้ทำการเลี้ยงเกสรตัวเมีย (pistil) ของทิวลิป พบว่า GA ที่มีความเข้มข้น 10 และ 50 มก/ล เพิ่มความยาว และน้ำหนักสดของเกสรตัวเมีย ซึ่งได้มาจากหัวที่ไม่ได้รับอุณหภูมิต่ำ ในปีต่อมา Kawa และ Saniewski รายงานเพิ่มเติมว่า ทิวลิปพันธุ์ Gudoshnik เมื่อนำเอาเกสรตัวเมียซึ่งได้จากหัวที่ได้รับและไม่ได้รับอุณหภูมิต่ำ มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ซึ่งเติม GA 50 มก/ล พบว่า GA ให้ผลกระตุ้นการเพิ่มความยาวและน้ำหนักสดของเกสรตัวเมียซึ่งได้จากหัวที่ไม่ได้รับอุณหภูมิต่ำอย่างมาก และให้ผลลดลงเมื่อใช้เกสรตัวเมียที่ได้จากหัวที่ได้รับอุณหภูมิต่ำ การเติม ABA (abscisic acid) 10 มก/ล อย่างเดียวหรือพร้อมกับ GA จะยับยั้งการเจริญเติบโตของเกสรตัวเมียอย่างมีนัยสำคัญซึ่งได้จากหัวที่ได้รับหรือไม่ได้รับอุณหภูมิต่ำ

Nishiuchi (1987) รายงานว่าเมื่อนำชิ้นส่วนจากกลีบหัวซึ่งได้จากหัวที่แก่เต็มที่ของทิวลิปพันธุ์ Apeldoorn ไปเลี้ยงบนอาหารที่มีการเติม NAA และ kinetin ที่ความเข้มข้น 0.3 มก/ล และ 0.03 มก/ล ตามลำดับจะเกิดตา และชิ้นส่วนที่มีตาที่กำลังเจริญอยู่จำนวนมากนี้สามารถย้ายต่อไปได้เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS คัดแปลงที่มี pH 5.1



ส่วน Le Nard et al (1987) รายงานว่าถ้านำชิ้นส่วนจากหัวของทิวลิปพันธุ์ Lustige, Witwe, Paul Richler และ Apeldoorn ที่เก็บไว้ในที่ที่มีอุณหภูมิ 20 °ซ มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี NAA 1 มก/ล BA 1 มก/ล หรือ 2iP (isopentenyladenine) 1-3 มก/ล ในสภาพมืด ที่อุณหภูมิ 20 °ซ หรือต่ำกว่าพบว่าจะเป็นสภาพที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิดอวัยวะคล้ายใบขึ้น (leaf-like organ)

Alderson et al (1987) พบว่าเมื่อเลี้ยงส่วนก้านดอกของทิวลิปพันธุ์ Merry Widow บนอาหารสูตร MS ที่มี NAA และ BA อย่างละ 1 มก/ล จะเกิดยอด (adventitious shoot) ขึ้นได้จากเซลล์ชั้นนอก ซึ่งยอดนี้สามารถเกิดจุดกำเนิดของหัว (bulb primordium) ที่โคนได้หลังจากเลี้ยงในที่ที่มีอุณหภูมิ 20 °ซ เป็นเวลา 12-16 สัปดาห์ การพัฒนาของจุดกำเนิดหัวจะถูกกระตุ้นโดยการย้ายไปเลี้ยงบนอาหารที่มี NAA 1 มก/ล และมีหรือไม่มี BA ที่ความเข้มข้น 0.1 มก/ล การเลี้ยงไว้ในที่ที่มีอุณหภูมิ 4 °ซ นาน 12 สัปดาห์ ตามด้วย 25 °ซ จะกระตุ้นการสร้างหัวได้ที่บริเวณโคนของยอด การเกิดหัวถูกกระตุ้นได้โดยการเลี้ยงไว้ในที่มีแสง red : infra red อัตรา 3:4 แล้วตามด้วยการให้แก๊สเอธิลีน 1 และ 10 สดล (ส่วนต่อล้าน) ยอดที่นำมาทดลองที่มีอายุ 12 เดือนให้ผลตอบสนองดีที่สุด การกระตุ้นให้หัวเกิดทำได้โดยการเพิ่มสารกระตุ้นการเจริญเติบโต และน้ำตาลในอาหารที่เลี้ยง

### ไอริส (Iris)

Fujino et al (1973) ได้ทดลองกับ Dutch Iris โดยนำเอาตาข้างจากกลีบ 2 ชั้นนอกของหัวไอริส พันธุ์ Wedgewood มาเลี้ยงบนอาหารต่าง ๆ พบว่ากลีบที่เลี้ยงบนอาหารที่มี NAA และ BA จะเกิด adventitious bud แม้ไม่เกิดราก แต่กลีบที่เลี้ยงบนอาหารที่มีเฉพาะ NAA จะเกิดรากได้ นอกจากนี้ยังพบว่าเกลือแร่ที่ความเข้มข้นสูง จะทำให้การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนที่เลี้ยงดี นอกจากนี้ pH ระดับ 5-6 ความเข้มข้นของวุ้น 2 ก/ล และน้ำตาลซูโครส 2-4 % จะเป็นระดับที่เหมาะสม

### นาซิสซัส (Narcissus)

ในปี 1977 Seabrook et al สามารถ กระตุ้นให้เกิดยอด และรากได้จากส่วนของฐานใบ และรังไข่จากต้นนาซิสซัส พบว่าอาหารที่เหมาะสมมีส่วนประกอบของ กลีโอฟินทรีนที่ตัดแปลงแล้วจากอาหารสูตร MS กลีโอฟินทรีนตามปกติ และระดับของสารควบคุมการเจริญที่สูงกว่าปกติ พบว่าในเวลา 5 เดือน จะได้ยอดถึง 2,620 ยอด จากชิ้นส่วนที่เริ่มต้นเพียง 2 ชิ้น

Hosoki and Asahira (1981) เลี้ยงก้านดอกของนาซิสซัสพันธุ์ *Geranium* บนอาหารที่มีส่วนผสมของธาตุอาหารหลักสูตร MS ธาตุอาหารรองสูตร Ringe และ Nitsch + สารอินทรีน + น้ำตาลซูโครส และวันความเข้มข้น 2 และ 0.7 % ตามลำดับ พบว่าเกิดตาเฉลี่ย 21 ตาคอหนึ่งชิ้นส่วนในเวลา 2 เดือน ในอาหารดังกล่าวซึ่งมี BA และ NAA 5 และ 1 มก/ล ตามลำดับ ซึ่งหากใช้ชิ้นส่วนจากส่วนอื่นเช่นจากรังไข่และใบจะเกิดตาจำนวนน้อยกว่า เมื่อนำยอดที่เกิดจากตาย้ายไปไว้ในอาหารที่มี NAA เพียง 1 มก/ล ก็จะทำให้เกิดหัวและรากขึ้นได้

ในปีต่อมา Steinitz and Yahel ได้ขยายพันธุ์ *Narcissus tazetta* โดยเลี้ยงในสภาพหลอดแก้ว พบว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงคือกลีบหัวสามารถเกิดหัวเล็ก ๆ ขึ้นมาใหม่ได้ งานที่มีคเมื่อนำโคนของกลีบหัว ซึ่งตัดหัว 2 กลีบติดกัน จากหัวพันธุ์ Grand Soleil d'Or มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ซึ่งใส่น้ำตาลซูโครส 30 ก/ล (กรัม/ลิตร) และมี AC (Activated Charcoal) 5 ก/ล เขาพบว่าถ้าขาด AC จะทำให้การเกิดและการเจริญเติบโตของหัวใหม่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และถ้าเติม NAA 1 มก/ล และ BA 10 มก/ล ในอาหารที่ไม่มีการเติม AC จะยับยั้งการสร้างหัวใหม่โดยสิ้นเชิง การยับยั้งของ NAA และ BA นี้สามารถลบล้างได้โดย AC นอกจากนี้แสงยังลดการเกิดและการเจริญเติบโตของหัวที่เกิดจากชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่มี AC อยู่ ส่วนการแบ่งหัวย่อยที่เกิดขึ้นใหม่ให้เป็นสองส่วนแล้วเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ซึ่งมีน้ำตาลและ AC ก็กระตุ้นให้เกิดหัวย่อยได้ หัวย่อยจะพัฒนาใบและรากได้เมื่อเลี้ยงไว้ในสภาพที่มีแสงบนอาหาร MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 30 ก/ล และ NAA 0.1 มก/ล ต้นพืชต้นเล็กที่พัฒนาเต็มที่จะสามารถย้ายออกปลูกข้างนอกได้

## ไฮยาซิน (Hyacinth)

ในปี 1975 Pierik et al พบว่าเมื่อเลี้ยงกลีบหัวของไฮยาซินลงบนอาหารจะเกิดหัวย่อย (bulblet) ขึ้นได้ และหัวย่อยเหล่านี้สามารถกระตุ้นให้เกิดรากได้ เช่นเดียวกับกับ Hussey (1975) ได้ขยายพันธุ์ ไฮยาซินเป็นผลสำเร็จ โดยใช้เนื้อเยื่อจากส่วนต่าง ๆ ของพืช ซึ่งทำให้ปลอดเชื้อแล้วมาเลี้ยงในอาหาร พบว่าชิ้นส่วนเกิดต้นใหม่ได้โดยเฉพาะส่วนของกลีบหัว (bulb scale) ที่ติดกับลำต้นแปรรูป (basal plate) นั้นไม่ต้องการสารกระตุ้นการเจริญเติบโตใด ๆ แต่ส่วนของใบ ก้านใบ และรังไข่ นั้นต้องการ IAA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่ำ ถ้าความเข้มข้นของ NAA สูงขึ้นจะเกิดแคลลัสขึ้นแทนการเกิดต้นใหม่ ต้นพืชที่ได้สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ส่วน ซึ่งแต่ละส่วนสามารถจะเกิดต้นใหม่ขึ้นได้อีก วิธีการแบ่งต้นนี้สามารถทำได้ทุก 8-12 สัปดาห์ ตลอดทั้งปี

Tamura (1978) ได้เลี้ยงกลีบหัวของไฮยาซินหลายพันธุ์ บนอาหารสูตร MS หรือบนอาหารสูตร MS ซึ่งมี 2,4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ และมี IAA หรือ BA 0.5 มก/ล พบว่าบนอาหารที่มี 2,4-D 0.001-0.1 มก/ล จะเกิด adventitious bud ได้ดี ส่วน adventitious root จะเกิดขึ้นได้ในอาหารที่มี 2,4-D 0.001-0.5 มก/ล และเกิดได้ดีในอาหารที่มี 2,4-D 0.01 มก/ล นอกจากนี้ยังพบว่า การเกิดแคลลัสนั้นเกิดในอาหารที่มี 2,4-D 0.5 มก/ล

ในปี 1981 Kim et al ได้นำตาดอกของ *Hyacinthus orientalis* L. 3 พันธุ์ มาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่ามีหัวย่อยจำนวนหนึ่งเกิดขึ้นได้เมื่อใช้อาหารที่มีส่วนประกอบของเกลือ วิตามิน ไกลซีน (glycine) m-inositol น้ำตาล และ วุ้น สูตร MS ร่วมกับ BA และ NAA 3.0 และ 0.3 มก/ล ตามลำดับ ไม่ว่าจะเลี้ยงในสภาพที่มีแสงหรือไม่มีแสงก็ตาม หัวย่อยเหล่านี้สามารถออกรากได้เมื่อหัวแยกออกจากกัน แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหารที่มี NAA 0.1 มก/ล เขาพบว่าเมื่อเลี้ยงบนอาหารนี้แล้วมากกว่า 90 % ของหัวเหล่านี้จะย้ายออกไปปลูกลงดินได้

Bae et al (1984) เลี้ยงชิ้นส่วนจากกลีบหัว ก้านดอก และใบของไฮยาซิน พันธุ์ Jan Bos บนอาหารสูตร MS ที่มี NAA 2,4-D kinetin GA และ IBA ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าเกิดการสร้างแคลลัสได้ โดยพบว่า 2,4-D และ NAA ที่เข้มข้นที่  $10^{-5}$ M หรือมากกว่า จะทำให้เกิดการสร้างแคลลัสได้ดี และ 2,4-D ให้ผลมากกว่า NAA ส่วนการพัฒนาของยอดประมาณ 50% เกิดขึ้น บนอาหารสูตร MS ที่มีทั้ง NAA  $10^{-7}$ M หรือ 2,4-D  $10^{-6}$ M กับ BA  $10^{-5}$ M เขาพบว่าการพัฒนา รากประมาณ 86 % เกิดขึ้นเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี NAA  $10^{-6}$ M แต่เพียงอย่างเดียว

Chung et al (1984) เลี้ยงอวัยวะส่วนต่าง ๆ ของ *Hyacinthus orientalis* บนอาหารสูตร MS ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสต่าง ๆ ในระดับ pH ต่าง ๆ พบว่าต้นใหม่ เกิดได้ดีเมื่อเลี้ยงกลีบหัวในที่มีแสงมากกว่าในที่มืดและอาหารที่มี IBA 1 มก/ล จะให้ผลมากกว่าอาหารที่มี IAA ความเข้มข้นเดียวกัน สำหรับระดับความเป็นกรดและด่างนั้น pH 5.8 เหมาะสมสำหรับการเพิ่มจำนวนต้น ในขณะที่ pH 4.8 หรือ 5.3 เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของหัวย่อยหลังการเกิดหัว (differentiation) แล้ว และการใช้ฮอร์โมนจากส่วนของใบจะเหมาะสมมากกว่าการใช้กลีบหัว การขยายพันธุ์จะกระทำได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุดเมื่อเลี้ยงส่วนของใบบนอาหารสูตร MS ที่มี IBA 1 มก/ล น้ำตาลซูโครส และ รุน 50 และ 8 ก/ล ตามลำดับ ที่ระดับ pH 4.8 หรือ 5.3

### ลิลลี่ (Lily)

ในปี 1978 Heuser and Harker ขยายพันธุ์ daylily โดยใช้กลีบเลี้ยงและกลีบดอกจากตาดอก มาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง พบว่าการเจริญในระยะที่ 1 ส่วนของชิ้นส่วนที่เลี้ยงเกิดเป็นแคลลัส ซึ่งใช้เวลาประมาณ 2-12 สัปดาห์ การเจริญในระยะที่ 2 เป็นระยะของการเพิ่มจำนวนยอด ซึ่งจะเกิดได้ดีที่สุดในอาหารที่มี kinetin 0.1 มก/ล ส่วนในระยะที่ 3 เป็นระยะที่มีการพัฒนาของรากซึ่งต่อจากรยะที่ 2 เขาพบว่ารากเกิดได้ดีในอาหารที่มี IAA 5.0 มก/ล

Novak and Petru (1981) เลี้ยงกลีบหัวของลิลลี่ในอาหารสูตร Linsmaier and Skoog ที่มี BA และ NAA ที่ 5 และ 1  $\mu\text{M}$  ตามลำดับ พบว่าหัวย่อยเกิดขึ้นได้ ซึ่งสามารถได้ต้นจำนวนถึง 10,000-1,000,000 ต้นต่อหัวต่อปี

นอกจากนี้ Van Aartrijk and Blom-Barnhoorn (1981) ยังได้เลี้ยงส่วนของกลีบหัวของลิลลี่เพื่อทำให้เกิดหน่วยเจริญเติบโต (meristem) พบว่าความเข้มข้นของ NAA ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกลีบหัวอยู่ระหว่าง 0.03-0.10 มก/ล เขาพบว่า NAA ที่ความเข้มข้นสูงจะยับยั้งการเจริญของ primordium ออกมาภายนอกซึ่งพฤติกรรมนี้จะยังคงมีผลอยู่แม้เมื่อปลุกต้นพืชลงดินแล้ว แต่สามารถแก้ไขได้โดยวิธีการปลุกในสภาพที่มีความเย็นก่อน (pre-planting cold treatment) ซึ่งจะกระตุ้นการงอกได้ และในปีเดียวกันเขาได้รายงานว่าการเก็บหัวไว้ในที่ที่มีอุณหภูมิ 0 °C นาน 12 เดือนจะลดความต้องการ NAA เพื่อการเกิดอวัยวะใหม่ จาก 0.1 เป็น 0.05 มก/ล

สำหรับการนำเอากลีบหัวของลิลลี่ (*Lilium longiflorum*) มาเลี้ยงบนอาหารนั้น Paek and Chun (1983) ได้นำส่วนกลีบหัวมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ซึ่งเติม NAA และ kinetin หรือเฉพาะ kinetin ในสภาพแสงต่าง ๆ กัน พบว่าเกิดการสร้างแคลลัสขึ้นเมื่อเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนฐานของกลีบหัวในสภาพที่มีแสง 1,000 ลักซ์ (lux) มากกว่าเมื่อเลี้ยงในสภาพมืดและ เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี NAA 1.0 หรือ 2.0 มก/ล หรือบนอาหารที่มี NAA 1.0 มก พร้อมกับ kinetin 0.3 มก/ล จะเกิดแคลลัสขึ้นมากกว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นอื่น พบว่าการสร้างหัวย่อยนั้นเกิดในเนื้อเยื่อด้านโคนมากกว่าด้านปลาย และเกิดได้ทั้งในสภาพมีแสงและไม่มืด แต่การสร้างหัวย่อยในสภาพมืดจะมีขนาดใหญ่กว่าในสภาพมีแสง เขาพบว่าเกิดหัวย่อย 4 หัวต่อ 1 ชิ้นส่วนจากด้านโคนเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี NAA 0.5 มก/ล หรือ NAA 0.5 มิลลิกรัม เมื่อใช้ร่วมกับ kinetin 0.3 มก/ล ส่วน Stimart et al (1983) รายงานว่าเมื่อนำส่วนของกลีบหัวของ *Lilium longiflorum* พันธุ์ Ace มาเลี้ยงในสภาพที่มีอุณหภูมิ 30 °C จะเกิดหัวย่อยได้ และ 50% ของหัวย่อยนั้นแกนต้น (stem axis) จะยึดตัวได้เมื่อย้ายออกปลุกในกระถางในเวลา 14 สัปดาห์ ส่วนหัวย่อยที่เกิดเมื่อเลี้ยงในสภาพอุณหภูมิ 25 °C และหัวย่อยของพันธุ์ Nellie White ที่เกิดขึ้นเมื่อเลี้ยงกลีบหัวในสภาพอุณหภูมิ 25 °C และ 30 °C เมื่อย้ายออกปลุกในกระถางแล้วจะไม่เกิดการยึดตัวของแกนต้นเลย

Takayama and Misawa (1983a) นำกลีบหัวของลิลี่หลายพันธุ์มาเลี้ยงบนอาหาร วันสูตร MS ซึ่งมีน้ำตาลซูโครส 90 ก/ล และ NAA 0.1 มก/ล ที่อุณหภูมิ 25 °ซ ในสภาพแสง 24 ชม (สว่าง) ต่อมาย้ายกลีบหัวนั้นไปไว้บนอาหารวันสูตร MS เช่นเดิมแต่มีน้ำตาลซูโครส 30 ก/ล NAA 0.1 มก/ล และ kinetin 10 มก/ล โดยเลี้ยงในสภาพอุณหภูมิ 25 °ซ พบว่าในเวลา 60 วันเกิดหัวที่มีใบ (leafy adventitious bulb scale) ขึ้น ซึ่งต่อมาจะพัฒนาได้เมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่ไม่มี kinetin โดยใช้เครื่องเขย่าแบบหมุน (rotary shaker) 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 40 วัน หัวย่อยจะเกิดขึ้นได้เมื่อย้ายกลีบหัวเหล่านี้ไปเลี้ยงในอาหารเหลวหรือบนอาหารวันสูตร MS ที่มี NAA 0.1 มก/ล น้ำตาลซูโครส 30-60 ก/ล ที่อุณหภูมิ 25 °ซ มีแสงฟลูออเรสเซนซ์ 2.5 w/m<sup>2</sup> เมื่อนำหัวย่อยเหล่านี้ไปปลูกในดินพบว่าบางพันธุ์สามารถออกดอกได้ในปีแรกแต่บางพันธุ์ต้องการเวลา 2-3 ปีจึงจะออกดอกได้ ในปีเดียวกันเขาก็ได้รายงานการขยายพันธุ์ลิลี่ให้ได้จำนวนมากเพิ่มเติมว่าเมื่อเติม kinetin 10 มก/ล ในอาหารสูตร MS จะทำให้เกิดการพัฒนาของหัวใหม่ที่เกิดโดยตรงจากหัวเล็กที่เกิดขึ้นอยู่ก่อนแล้วเป็นจำนวนมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัดใน *Lilium auratum* ซึ่งกลีบหัวที่เกิดขึ้นนั้นมีขนาดเล็กเกินกว่าจะแยกออกมาเป็นแต่ละกลีบหัวเดี่ยวได้ และการใช้วิธีเลี้ยงแบบเขย่าจะกระตุ้นการเจริญเติบโตขึ้นอย่างเห็นได้ชัด กลีบหัวเหล่านี้เมื่อแยกออกเป็นชิ้นแล้วย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่ไม่มี kinetin จะเกิดการสร้างหัวย่อยได้

ในปีถัดมา Paek and Shin (1984) รายงานว่าการเกิดหัวจาก ชิ้นส่วนที่เลี้ยงของ *Lilium lancifolium* นั้นมีจุดกำเนิดที่เซลล์ชั้นผิวนอก หรือชั้นถัดลงไปของกลีบหัวค้ำาน พบว่า ABA (abscisic acid) มีแนวโน้มที่ยับยั้งการเกิดอวัยวะ แต่ GA<sub>3</sub> ส่งเสริมโดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 1.0 มก/ล เขายังรายงานว่าหัวที่ได้นั้นจะพัฒนาระยะพักตัวเมื่อได้รับอุณหภูมิ 4 °ซ นาน 30 วัน

ในปี 1985 Zimmermann and Ascher ได้นำใบเลี้ยงของลิลี่ พันธุ์ Pink Trumpet ซึ่งได้มาจากเมล็ดที่แก่มาเลี้ยงในอาหารสูตร Emsweller, Asem, Uhring หรือ MS พบว่าการเจริญและการเพิ่มจำนวนหัวย่อยจะถูกกระตุ้น ได้โดยการเติม NAA 0.03 มก/ล ส่วน Chen (1985) พบว่าเมื่อเลี้ยงกลีบเลี้ยงของลิลี่จะเกิดจุดกำเนิดตา (adventitious bud primordia) ได้ถึง 98 % ในเวลา 2 สัปดาห์ โดยใช้อาหารสูตร MS ที่มีวิตามินบี 1

0.5 มก/ล วิตามินบี 2 0.2 มก/ล ไกลซีน 3 มก/ล กรดนิโคตินิก (nicotinic acid) 0.5 มก/ล NAA 2 มก/ล IBA 0.4 มก/ล และ kinetin 2 มก/ล

ในปี 1986 Chung et al รายงานว่าเมื่อนำชิ้นส่วนจากก้านช่อดอก ของลิลลี่พันธุ์ Georgia มาเลี้ยงบนอาหารที่มี NAA 0.1 มก/ล และ kinetin 0.1 มก/ล จะเกิดการสร้างหัวย่อยในแต่ละชิ้นส่วนเป็นจำนวนมากและถ้าใช้ชิ้นส่วน จากกลีบดอกจะเกิดหัวย่อยมากที่สุด เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี IAA 1.0 มก/ล เพียงอย่างเดียวหรือเมื่อใช้ร่วมกับ kinetin 0.1 มก/ล โดยเฉพาะอย่างยิ่งเปอร์เซ็นต์ของการสร้างหัวย่อยจะสูงขึ้นเมื่อใช้วิธีนี้ได้รับความเย็นร่วมด้วย

Niimi (1987a) รายงานถึงปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเกิดและการเจริญเติบโตของหัวย่อยเมื่อเลี้ยงกลีบหัวของ Lilium rubellum ในสภาพต่าง ๆ คือเลี้ยงกลีบหัวบนอาหารสูตร MS ที่มี NAA 0.3 มก/ล หรือ NAA 0.01-1.0 มก/ล ร่วมกับ BA 0.001-0.1 มก/ล ในอุณหภูมิ 15-30 °C ภายใต้สภาพแสง 0-24 ชม. พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการสร้างหัวย่อย คือที่ 25 °C ซึ่งมีกลีบหัวเกิดหัวย่อยถึง 89 % โดยมีจำนวน 2-3 หัวย่อยต่อ 1 ชิ้นส่วนที่เลี้ยง เขาพบว่าแสงกระตุ้นการสร้างหัวย่อยนี้ โดยในสภาพที่มีแสงมีกลีบหัวสร้างหัวย่อยมากถึง 100 % และในสภาพที่มีมืดมีกลีบหัวสร้างหัวย่อยเพียง 80% อย่างไรก็ตามเขาพบว่าน้ำหนักสดของหัวย่อยซึ่งสร้างในสภาพมืดมากกว่าหัวย่อยซึ่งสร้างในสภาพมีแสงนอกจากนี้เขายังพบว่า NAA 0.05 หรือ 0.01 มก/ล กระตุ้นการสร้างหัวย่อยได้ ในขณะที่ความเข้มข้นสูงขึ้นไปยังการสร้างแต่การเติม BA จะมีผลเพียงเล็กน้อย

Niimi (1987b) ได้นำส่วนใบของ Lilium ขนาด 5 มม มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ซึ่งเติม glycine, m-inositol, pyridoxin.HCl, thiamine.HCl น้ำตาลซูโครสและวัน โดยมีการปรับความเข้มข้นของ NAA และ GA พบว่าใน Lilium บางพันธุ์สามารถเกิดหัวย่อยได้ง่ายจากชิ้นส่วนที่เลี้ยง และ NAA 0.1 มก/ล หรือมากกว่าทำให้จำนวนหัวย่อยเพิ่มมากขึ้นในขณะที่ BA ให้ผลน้อยกว่า

Konchak and Rodeva (1987) ศึกษาผลของ NAA, kinetin หรือ BA ที่มีต่อการเกิดหัวเล็กจากส่วนกลีบหัวของ Lilium พันธุ์ Yellow Blaze โดยแต่ละชนิดมีความเข้มข้น 0.0-0.5 มก/ล ในอาหารสูตร Linsmaier and Skoog (1965) พบว่า NAA 0.5 มก/ล

กระตุ้นให้เกิดหัวย่อยได้ ในขณะที่ kinetin 0.5 มก/ล หรือ BA 0.1 มก/ล กระตุ้นการสร้าง แคลลัส

### ฟรีเซีย (Freesia)

ในปี 1983 Kruczkowska พบว่าเมื่อเลี้ยงตาของฟรีเซียบน อาหารสูตร MS ที่มี BA 5 มก/ล และ IAA 1 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสขึ้นได้ การเกิดยอดดีที่สุดเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA 5 มก/ล และ IAA 1 มก/ล หรืออาจใช้ BA 5 มก/ล และ kinetin 1 มก/ล ส่วนการเกิดรากจะเกิดเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี IAA 0.1 มก/ล

### อัลเลียม (Allium)

ในปี 1981 Hussey and Falavigna ทดลองนำเอาเกล็ดหัวที่ติดกัน 2 กลีบ (twin scale) จากหัวหอม (*Allium cepa*) มาเลี้ยงในอาหารพบว่า สามารถเกิด adventitious shoot ได้ ซึ่งเมื่อตัดแบ่งยอดนี้ตามยาวเป็นสองส่วนก็สามารถใช้เป็นชิ้นส่วนสำหรับเลี้ยงต่อไป อาหารซึ่งกระตุ้นให้เกิดยอดนี้ BA อยู่ ด้วยแต่อาจมีหรือไม่มี NAA เขาพบว่าเมื่อเลี้ยงในสภาพ ที่มีแสงยาว 16 ชั่วโมง จะกระตุ้นให้เกิดยอดมากขึ้นซึ่งมากกว่าในสภาพที่มีแสง 8 ชั่วโมง แต่สภาพแสงมีผลน้อยต่อการเจริญเติบโตต่อไปของยอด adventitious shoot นี้มีจุดเริ่มต้นมาจากชิ้นเนื้อเยื่อทั้ง เซลล์ชั้นผิวนอกและชั้นถัดลงไป ในบริเวณผิวด้านนอกของเกล็ดและใบใกล้ลำต้น จุดกำเนิดของยอดนี้มีหลายเซลล์แต่ยังคงมีลักษณะทางพันธุกรรมคงที่อยู่ตามเดิม

ในปี 1984 Ziv et al รายงานว่าเมื่อเลี้ยงส่วนต่าง ๆ จากหัวของ *Allium ampeloprasum* นั้นส่วนของช่อดอกอ่อน มีความสามารถในการเกิดยอดได้ดี เมื่อเลี้ยงบนอาหาร ที่มีอัตราส่วนของ BA:NAA เป็น 6:1 จะกระตุ้นให้เกิดยอดขึ้นเป็นจำนวนสูงสุด และเมื่อย้ายยอดเหล่านั้นไปไว้บนอาหารที่มี IBA แต่ไม่มีไซโตคินินจะมีการสร้างหัวย่อยขึ้น ซึ่งเมื่อนำ ออกปลูกภายนอกสภาพหลอดแก้วจะ ไม่มีการพักตัวและสามารถให้ดอกได้ในเวลา 2 ปี



Mosella and Fernandez (1986) เลี้ยงปลายยอดของ pink garlic (*Allium sativum*) บนอาหารที่มี BA 0.05 มก/ล และ phloroglucinol 126 มก/ล แล้วย้ายไปไว้บนอาหารที่ทำให้เกิดราก โดยมี NAA 0.5-2.0 มก/ล พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงสุดถึง 92 % บนอาหารที่มี NAA 1.0 มก/ล และพบว่าเกิดหัวเล็ก ๆ ขึ้น 80 % ในต้นที่มีรากแล้ว ขณะที่ยังอยู่ในอาหาร

### กลาดิโอลัส (*Gladiolus*)

Hussey (1977) ได้เลี้ยงตาข้างของกลาดิโอลัส 3 พันธุ์ บนอาหารที่มีระดับ BAP (benzyl aminopurine) ต่างกัน พบว่า BAP บังคับการพักตัวของหัวและช่วยกระตุ้นให้เกิดการเจริญเติบโตของยอดและยับยั้งการพัฒนาราก การเจริญเติบโตของตาข้างจะพัฒนาได้อย่างอิสระในสภาพที่เลี้ยงในหลอดแก้ว ดังนั้นจึงสามารถจะย้ายไปเลี้ยงบนอาหารใหม่ เพื่อเพิ่มจำนวนได้อย่างต่อเนื่อง ระดับ BAP ที่เหมาะสมนั้นแตกต่างกันไปตามพันธุ์ โดยขึ้นกับอัตราการขยายพันธุ์ตามธรรมชาติด้วย ต้นพืชซึ่งไม่ได้ย้ายไปไว้บนอาหารใหม่จะพักตัว และมีการสร้างหัวเล็ก ๆ ขึ้นมาซึ่งสามารถย้ายปลูกได้ในเครื่องปลูกในสภาพนอกหลอดแก้ว

Ziv (1980) เลี้ยงตาข้างของกลาดิโอลัสพันธุ์ Eurovision ในอาหารสูตร MS ซึ่งมี kinetin + NAA ที่ความเข้มข้น 2 และ 0.1 มก/ล ตามลำดับ + น้ำตาลซูโครส 30 ก/ล พบว่าจะเกิดยอดขึ้นได้ ยอดเหล่านี้สามารถย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตรเดิม หรืออาหารที่เข้มข้นครึ่งส่วน + NAA 0.5 มก/ล และน้ำตาลซูโครส 15 ก/ล การเกิดหัวย่อยเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 2-4 มม น้ำหนัก 13 มก เกิดเมื่อเลี้ยงตาข้างในอาหารสูตรแรกแต่หัวย่อยนี้จะพักตัวอยู่ ส่วนการเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารครึ่งส่วน พบว่าจะเกิดรากขึ้นและเมื่อย้ายต้นอ่อนลงปลูกในดินจะมีการเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่อง และสร้างหัวที่มีขนาดใหญ่กว่าคือมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 9-10 มม ซึ่งหนัก 285 มก

Bajaj et al (1983) ได้เลี้ยงก้านช่อดอกของกลาดิโอลัส บนอาหารที่มี NAA และ kinetin พบว่าจะเกิดแคลลัสขึ้นซึ่งส่วนใหญ่ไม่เกิดรากแต่มีโอกาสเกิดยอดบ้าง แต่ต้นที่สมบูรณ์ (plantlet) จะเกิดได้เมื่อเลี้ยงตายอดและตาข้างของหัวย่อย

ในปี 1987 Zhuo and Sun นำส่วนของตาดอก และตาที่กำลังพักตัวอยู่จากหัวของ *Gladiolus hybridus* มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี NAA 0.1-0.5 สดล และ BA 0.5-1.0 สดล พบว่ายอดใหม่ที่เกิดขึ้นซึ่งมีความยาว 4.5 ซม เกิดรากได้เมื่อย้ายไปไว้บนอาหารสูตร MS ที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารครึ่งส่วนและมี NAA 0.1-0.5 สดล

Dantu and Bhojwani (1987) ขยายพันธุ์แกลดิโอลัสพันธุ์ Friendship, Her Majesty และ American Beauty โดยใช้ตาข้างซึ่งตัดจากหัวที่เก็บไว้วันที่ที่มีอุณหภูมิต่ำพบว่าสามารถเกิดยอดได้ในอาหารสูตร MS ที่มี BA 0.5 มก/ล โดยยอดนี้จะเพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อย ๆ ในเวลา 2 บินอัตร่า 3 เท่าทุก 2 สัปดาห์หรือ 5 เท่าทุก 4 สัปดาห์ ยอดสามารถยึดได้เฉพาะในอาหารที่ไม่มี BA หรือเมื่อมี BA ระดับต่ำตั้งแต่ 0.1-0.2 มก/ล และยอดเหล่านี้พร้อมที่จะเกิดรากได้หรือกระตุ้นให้สร้างหัวได้ และประมาณ 80% ของหัว สามารถงอกได้ในกระถาง น้ำตาลซูโครส 6 หรือ 10% ทำให้หัวมีขนาดใหญ่ คือขนาดประมาณ 10-23 มม

Dickens et al (1987) ศึกษาการขยายพันธุ์ *Gladiolus flanaganii* โดยเลี้ยงตาข้างในอาหารสูตร MS ซึ่งมี kinetin 0.5 มก/ล พบว่าสามารถกระตุ้นให้ตาข้างเจริญและไม่มีการพักตัวของหัว การใส่ NAA 5 มก/ล ในอาหารจะไม่มีผลเสียต่อการเจริญของหัวและการเกิดราก

Lilien-Kipnis and Kochba (1988) รายงานการขยายพันธุ์แกลดิโอลัส ลูกผสมให้ได้จำนวนมากในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำตายอดและตาข้างจากหัวมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี NAA ระดับต่ำ และมี BA หรือ kinetin ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าเกิดรากในอาหารที่ไม่มีไซโตคินิน ต้นพืชต้นเล็กที่ได้สามารถนำไปปลูกในเรือนกระจกได้โดยตรง และยังพบว่าการเติม NAA หรือ activated charcoal ลงในอาหารสามารถทำให้การออกรากและผลผลิตของหัวเพิ่มขึ้นหลังจากย้ายปลูกในเรือนกระจก

#### รานันคูลัส (*Ranunculus*)

ในปี 1986 Lercari et al ได้ทดลองขยายพันธุ์ *Ranunculus* ในสภาพปลอดเชื้อโดยใช้ส่วนหัว (rhizome) หน่วยเติบโตปลายยอด ใบหรือคาบ มาเชื้อโดยใช้ไซโตคินิน

โซไบคลอไรท์ (NaOCl) หรือเมอคิวริกคลอไรด์ (HgCl<sub>2</sub>) พบว่าต้นพืชที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่จะได้มาจากการนำเมล็ดไปฆ่าเชื้อ โดยใช้ NaOCl 0.5 % เป็นเวลา 20 นาที และเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี *m*-inositol 100 มก/ล thiamine 0.4 มก/ล น้ำตาลซูโครส และ วุ้น 30 และ 8 ก/ล ตามลำดับ พบว่าในอาหารสูตร MS ที่มี NAA 2 มก/ล นั้น ทำให้ต้นพืชบิดเบี้ยวและมีลักษณะเป็นวงและพองขึ้น แต่เมื่อย้ายไปเหล่านี้ไปบนอาหาร MS ก็จะได้ต้นพืชจำนวนมากในเวลา 8 สัปดาห์ ต้นพืชเหล่านี้สามารถเจริญเติบโตได้ดีบนอาหารสูตร MS ที่มีอัตราส่วนของไซโตคินิน : ออกซิน IAA ต่าง ๆ กัน

### ขิง (Ginger)

Hosoki and Sagawa(1978) ประสบความสำเร็จในการขยาย พันธุ์ขิง (*Zingiber officinale* Roscoe.) โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยใช้ ตาซึ่งเกิดจากลำต้นใต้ดิน (rhizome) มาเลี้ยงในอาหารที่มีธาตุอาหารหลักสูตร MS ธาตุอาหารรองและวิตามินของ Ringe และ Nitsch น้ำตาลซูโครส 2% BA 1 สดล พบว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงเกิดยอดจำนวนมากพร้อมทั้งรากเมื่อย้ายแต่ละต้นไปเลี้ยงบนอาหารที่มี BA 1 สดล ต้นอ่อนที่มีรากนี้สามารถย้ายออกปลูกได้ในสภาพโรงเรือนกระจก

Pillai และ Kumar (1982) เลี้ยงปลายยอดของขิงในอาหารกึ่งแข็งสูตร Schenk และ Hildebrandt (SH), 1972 พบว่าเกิดการแตกยอดได้ที่โคนของยอดแรกในเวลา 3 เดือนเป็นจำนวน 15 ต้น โดยมีการพัฒนารากได้ บางครั้งพบแคลลัสเกิดขึ้นด้วยแต่แคลลัสนั้นไม่เจริญต่อเมื่อย้ายต้นที่เกิดขึ้นลงในอาหารใหม่ก็จะได้ต้นจำนวนมากขึ้น การกระตุ้นให้เกิดรากดีขึ้นทำได้โดยย้ายต้นไปเลี้ยงบนกระดาษกรองในอาหารเหลว พบว่ารากเกิดขึ้นในเวลา 2-3 สัปดาห์ ต้นที่ได้สามารถนำไปย้ายปลูกได้ในดินโดยต้นจะตั้งตัวได้ในเวลา 7-10 วัน การขยายพันธุ์ขิงโดยวิธีปลอดเชื้อนี้สามารถทำได้ตลอดปี โดยไม่มีช่วงพักตัว ในปี 1987 De Lange et al เลี้ยงปลายยอดขิงในอาหารที่มีส่วนประกอบของธาตุอาหารหลักสูตร MS ธาตุอาหารรองและวิตามินของ Ringe และ Nitsch (1968) น้ำตาลซูโครส 4% BA 1 มก/ล วุ้น 0.8% pH 6.0 พบว่าเกิดต้นและรากขึ้นได้

ต่อมาในปี 1988 Ilahi และ Jabeen เลี้ยงชิ้นส่วนของต้นขิงที่ได้จากต้นอายุ 3 เดือน คา ส่วนของหัวที่มีจุดกำเนิดของตาอยู่ และยอดในอาหารสูตร MS ที่มีความเข้มข้นครึ่งส่วน โดยมีสารกระตุ้นการเจริญเติบโตต่างกัน พบว่าชิ้นส่วนของต้นไม่เกิดแคลลัสขึ้น แต่ส่วนของยอดเกิดแคลลัสได้ ซึ่งเมื่อย้ายไปเลี้ยงบนอาหารที่มีความเข้มข้นของ 2,4-D และ BA ต่าง ๆ กัน พบว่าเกิดจุดกำเนิดตาขึ้นได้ เมื่อย้ายต่อไปอีกจะ เกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์ นอกจากนี้เมื่อย้ายต้นเหล่านี้ไปเลี้ยงบนอาหารใหม่แล้ว 2 สัปดาห์ ยังเกิดแคลลัส ซึ่งมีสีเขียวขึ้น สำหรับชิ้นส่วนของหัว พบว่าเกิดตาขึ้นได้ซึ่ง เมื่อย้ายต่อไปในอาหารใหม่จะ เกิดต้นต่อไป และ เมื่อกระตุ้นให้เกิดรากจะสามารถย้ายออกปลูกภายนอกได้ ในปีเดียวกันนั้น Bhagyalakshmi และ Singh ได้ขยายพันธุ์ขิงพันธุ์ Wynad Local โดยใช้หน่วยเติบโตที่มีหรือไม่มีใบอ่อนหุ้มอยู่มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารต่าง ๆ 3/4 ส่วน น้ำตาล 6% น้ำมะพร้าว 20% กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) 100 มก/ล กลูตามีน (glutamine) 400 มก/ล AC 250 มก/ล BA และ IBA ที่ความเข้มข้น 0.5 และ 0.4 มก/ล ตามลำดับ วัน 0.8% พบว่าเกิดต้นได้แต่ไม่สามารถเกิดต้นเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรเดียวกันแต่น้ำตาลซูโครส 3% BA 4-5 มก/ล และส่วนประกอบอาหารอื่นเหมือนเดิม เมื่อใช้อาหารเหลวพบว่าให้ผลน้อยกว่าอาหารวันและเมื่อใช้ kinetin ความเข้มข้น 0.01-0.8 มก/ล ร่วมกับ NAA ที่ความเข้มข้น 0.01-0.8 มก/ล โดยใช้หรือไม่ใช้ร่วมกับ BA และ IBA ทั้งสองชนิดกระตุ้นให้เกิดยอดจำนวนมากขึ้น ต้นที่สมบูรณ์สามารถย้ายออกปลูกภายนอกได้ โดยพบว่าผลผลิตของหัวที่ได้เท่ากับผลผลิตของหัวที่ปลูกจากต้นที่ขยายพันธุ์โดยวิธีปลูกจากหัวภายนอก Noguchi และ Yamakawa (1988) ได้พัฒนาเทคนิคเพื่อขยายพันธุ์ขิงให้ได้จำนวนมากโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้หน่วยเติบโตของขิงมาเลี้ยงในอาหารวันที่มี BA 0-10 มก/ล พบว่าที่ BA ความเข้มข้นสูงกระตุ้นให้เกิดตามากขึ้นแต่ยังเกิดการเกิดราก แต่เมื่อใช้ BA ความเข้มข้นต่ำจะ ได้ยอดและรากที่ปกติ โดยได้ต้นจำนวนสูงสุด 6.3 ต้นโดยเฉลี่ย เมื่อใช้ BA 1 มก/ล ส่วนในอาหารที่มี NAA 0-0.1 มก/ล นั้น ไม่พบความสัมพันธ์ที่ชัดเจนนักเกี่ยวกับจำนวนตาที่เกิดขึ้น เช่นเดียวกับการพัฒนาของราก นอกจากนี้เขายังได้ทดลองใช้ชิ้นส่วนของลำต้นที่มีตาข้างติดอยู่มากเลี้ยงบนอาหารวัน พบว่าอาหารสูตร MS ดัดแปลง ทำให้เกิดยอดและรากได้ดีกว่าอาหารสูตร B5 โดยความเข้มข้นของสารเร่งการเจริญเติบโต คือ BA และ NAA ไม่มีความสัมพันธ์กับอัตราการเกิดยอดและราก อย่างไรก็ตาม

BA ที่ความเข้มข้น 3 มก/ล ใช้ร่วมกับ NAA ที่ 5 มก/ล เป็นจุดที่เหมาะสมสำหรับการกระตุ้นให้ เกิดต้นจากชิ้นส่วนของลำต้น และ เมื่อทดลอง เลี้ยงชิ้นส่วนของลำต้นนี้ในอาหาร เหลวโดยยาใช้ เครื่องหมุนความเร็ว 2 รอบต่อนาที เขาพบว่าเมื่อใช้ 2,4-D 1 มก/ล ทำให้เกิดแคลลัส หรือมีการขยายตัวของเนื้อเยื่อขึ้น ส่วนในอาหารที่มี BA นั้นเขาพบว่าเกิดกลุ่มของตา (bud clump) ขึ้น โดย BA ความเข้มข้นสูงขึ้น 3-10 มก/ล จะทำให้มีจำนวนตามากขึ้นตามลำดับ จำนวนตาส่งสุด 44.5 ตาโดยเฉลี่ย ได้จากการใช้ BA 10 มก/ล เขาสามารถแบ่งกลุ่มของตา ที่ได้ย้ายไปเลี้ยงในอาหารเหลวที่มี BA 3 มก/ล จะได้ต้นในเวลาอันรวดเร็ว ซึ่งต้นเหล่านี้ สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมในโรงเรือนได้ดี โดยมีอัตราการรอดถึง 93.8% และ เกิด หัวเล็ก พร้อมทั้งรากสะสมอาหารได้ในเวลา 6 เดือนหลังย้ายปลูก เขาแนะนำว่าการเลี้ยง ชิ้นส่วนของต้นในอาหาร เหลวโดยยาใช้ เครื่องหมุนน่าจะ เป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สุด สำหรับการขยาย พันธุ์ซึ่ง นอกจากนี้ Ikeda และ Tanabe (1989) ได้ศึกษาเทคนิคการย้ายต้นขิงในสภาพ ปลอดเชื้อเพื่อเพิ่มปริมาณต้นให้มากขึ้น โดยนำเอาส่วนของลำต้นเทียมที่มีใบอยู่และส่วนที่ตัดส่วน ิบออกไป (decapitated crown) แล้วมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มีความเข้มข้นของ BA และ NAA ต่างกัน พบว่าลำต้นเทียมที่เลี้ยงในอาหารวันที่มี BA 11  $\mu\text{M}$  และ NAA 0.6  $\mu\text{M}$  เกิดยอดสูงสุดคือ 5 ยอดและมีราก 15.3 รากโดยเฉลี่ย ในขณะที่เมื่อเลี้ยงส่วน decapitated crown ในอาหารเหลวสูตรเดียวกัน โดยยาใช้ เครื่องเขย่าความเร็วรอบ 90 รอบต่อนาทีเกิดต้น 8 ต้น มีรากเฉลี่ย 12.5 ราก และเกิดต้นสูงสุด จำนวน 10 ต้น ซึ่งมีราก 16.3 ราก เมื่อใช้ BA ความเข้มข้น 11  $\mu\text{M}$  เพียงชนิดเดียว นอกจากนี้เมื่อไม่ใช้ทั้ง BA และ NAA พบว่าเมื่อ เลี้ยงในอาหารเหลวจะได้ต้นจำนวน 4 ต้น ซึ่งมากกว่าเมื่อเลี้ยงในอาหารวันซึ่งได้ต้นเพียง 1 ต้นเท่านั้น

#### ขมิ้น (Turmeric)

Nadgauda et al (1978) ขยายพันธุ์ขมิ้น (*Curcuma longa*) ให้ได้จำนวนต้นมาก โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยใช้ตาอ่อนซึ่งกำลังงอกจากลำต้นใต้ดิน (rhizome) ของขมิ้นพันธุ์ Duggrirala และ Tekurpeta พบว่าตาจะยึดตัวได้เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS มีน้ำมะพร้าว

kinetin และ BAP หรือ บนอาหารสูตร MS (1962) ซึ่งมีน้ำมะพร้าว kinetin BAP และ inositol เมื่อย้ายยอดที่ยึดตัวแล้วนำไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร White ซึ่งมีน้ำตาลซูโครส 2% พบว่ายอดมีการพัฒนาระบบรากที่แข็งแรง และสามารถย้ายไปปลูกในกระถางได้ ความสามารถในการเกิดยอดนี้จะเพิ่มขึ้นหลังจากการย้ายครั้งแรกและจะคงที่หลังจากทำการย้ายไป 3-4 ครั้ง เขายังพบว่าจำนวนของต้นพืชที่ได้จะมากขึ้นถ้ามีการเลี้ยงต้นพืชนั้นไว้อย่างน้อย 4 สัปดาห์ การเพิ่มปริมาณโดยการย้ายไว้ในอาหารใหม่สามารถทำได้ตลอดทั้งปี โดยไม่มีการพักตัวตามปกติ เหมือนต้นที่ปลูกในแปลง

นอกจากนี้ Shetty et al (1982) ยังได้รายงานถึงการเลี้ยงตาของขมิ้นสายต้น 15 B บนอาหารสูตร MS ดัดแปลงโดยมีน้ำตาล 40 ก/ล kinetin 0.2-0.5 มก/ล pH 5.6 พบว่าเกิดแคลลัสขึ้นเมื่อมีการย้ายลงในอาหารสูตรเดิม และเมื่อให้แสง แคลลัสนั้นจะเกิดตาขึ้นหลายตา ซึ่งจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวและพัฒนาไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ต่อไป โดยมีจำนวนต้นพืชขยายต่อไปได้ 10-12 ต้นต่อ 1 ชิ้นส่วน ในปี 1988 Yasuda et al ได้ศึกษาการขยายพันธุ์พืชสกุลกระเจียว 3 ชนิดคือ *Curcuma zedoaria* *C. domestica* และ *C. aromatica* พบว่าเกิดแคลลัสขึ้นได้เมื่อเลี้ยงตายอดและตาข้างในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มก/ล และ kinetin 0.1 มก/ล และเมื่อใช้สารจากธรรมชาติ เช่น น้ำมะพร้าวในปริมาณ 10% (ปริมาตร/ปริมาตร) หรือสารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) 0.1 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) หรือ casamino acid 0.1% ร่วมกับการใช้ NAA และ kinetin ที่ความเข้มข้นดังกล่าว พบว่าน้ำมะพร้าวและ casamino acid ทำให้เกิดแคลลัสได้ใน *C. zedoaria* ในขณะที่สารสกัดจากยีสต์ระงับการเกิดแคลลัสและสารทั้งสามชนิดระงับการเกิดแคลลัสใน *C. domestica* แต่ทำให้เกิดแคลลัสได้ใน *C. aromatica* ส่วนตาข้างและตายอดที่ได้จากหัวของ *C. zedoaria* เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี NAA 0.1 หรือ 0.5 มก/ล พบว่าสามารถเกิดต้นขึ้นได้ แต่ถ้าเพิ่ม NAA ความเข้มข้นสูงขึ้นเป็น 1 หรือ 10 มก/ล จะทำให้เกิดแคลลัสขึ้น อย่างไรก็ตามเมื่อใช้ NAA ความเข้มข้นดังกล่าวร่วมกับ kinetin 0.1 มก/ล ทำให้เกิดต้นขึ้นได้ แม้ว่า NAA ที่ความเข้มข้น 10 มก/ล จะทำให้เกิดแคลลัสด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อใช้ BA 0.05-3 มก/ล เพียงชนิดเดียวจะทำให้เกิดต้นได้โดยที่ BA เข้มข้น 3 มก/ล ทำให้เกิดแคลลัสด้วย เมื่อ

ใช้อาหารที่มี NAA 1 มก/ล และ kinetin 0.1 มก/ล ในการขยายพันธุ์พืชสกุลกระเจียว ชนิดนี้จะได้ต้นถึง  $9.8 \times 10^5$  ต้นต่อปีโดยการคำนวณ

### บีโกเนีย (Begonia)

Margara and Piollat (1984a) เลี้ยงส่วนของกลีบดอกของบีโกเนียพันธุ์ Schwabenland Red บนอาหารวุ้นสูตร Magara N5K (1983) ที่มีทั้งออกซินและไซโตคินิน ระดับแตกต่างกัน พบว่าในอาหารที่มี NAA kinetin หรือ BA ชั้นส่วนที่เลี้ยงจะเกิดรากพร้อมทั้งใบ ซึ่งถ้ามีการย้ายอาหารก็จะเกิดอวัยวะดังกล่าวได้มากขึ้น

Peck and Cumming (1984) ได้ขยายพันธุ์บีโกเนียโดยใช้ส่วนของใบที่มีเส้นใบขนาด ๑ นิ้ว โดยตัดให้มีขนาด 2 x 2 ซม. เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง โดยใช้อาหารสูตร MS ร่วมกับวิตามิน น้ำตาลซูโครส NAA และ BA ที่มีความเข้มข้น 1.0 และ 5.0 มก/ล ตามลำดับ พบว่าเมื่อเลี้ยงในที่ที่มีอุณหภูมิ 20°ซ ให้แสงนาน 16 ชั่วโมง จะเกิด bud differentiation ขึ้นได้ภายใน 8-10 สัปดาห์ ถ้าต้องการให้เกิดต้นก็ย้ายลงอาหารเหลวที่ลดปริมาณ BA เป็น 1 มก/ล การชักนำให้เกิดรากเพื่อนำไปปลูกทำได้โดยเลี้ยงต้นที่ได้ในอาหารเหลวที่มี IBA 2 มก/ล เป็นเวลา 10 วัน

Margara and Piollat (1984b) นำชิ้นส่วนใบของ *Begonia x elatior* ขนาด เส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มม. มาเลี้ยงในสภาพที่มีไนโตรเจนในรูปของ  $\text{NH}_4^+$  ความเข้มข้นต่างๆ กัน ภายใต้ความเข้มแสง 3,000 lux พบว่าถ้าความเข้มข้นของไนโตรเจนดังกล่าวลดลงจะมีการสร้างตามากขึ้นคือเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS ซึ่งมี  $\text{NH}_4^+ : \text{total N} = 1:3$  มีการสร้างตา 29% แต่ถ้าเลี้ยงในอาหารสูตร N15K ซึ่งมี  $\text{NH}_4^+ : \text{total N} = 1:5$  จะมีการสร้างตาถึง 100% และพบว่าเมื่อเลี้ยงชั้นส่วนจากส่วนของกลีบดอกบนอาหารสูตร MS ปกติ แล้วย้ายไปไว้บนอาหารสูตร N30NH4 N30K N5K มีการสร้างตา 17 30 และ 0 % ตามลำดับ มีการสร้างกลีบดอก 0 12 และ 58% ตามลำดับ เขายังพบว่า การเติม kinetin ทำให้การสร้างกลีบดอกดีขึ้น ผลเหล่านี้มีความสัมพันธ์ระหว่างส่วนประกอบของอาหารและพันธุ์พืช ชนิดของการเกิดอวัยวะที่ต้องการ สารกระตุ้นการเจริญเติบโตที่ใช้และระยะการพัฒนาของชิ้นส่วนที่เลี้ยง

Imelda (1985) ขยายพันธุ์บีโกเนียหลายพันธุ์โดยใช้ส่วนของก้านใบมาเลี้ยงบนอาหาร  
สูตร MS ที่มีส่วนประกอบของ NAA BAP หรือ BA + 2iP พบว่ายอดและรากเกิดได้ดีที่สุด  
บนอาหารที่มี NAA 0.1 มก/ล + BAP + 2iP 0.2 หรือ 0.4 มก/ล ส่วนการกระตุ้นให้  
เกิดต้นเล็กนั้นดีที่สุดเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี GA<sub>3</sub> 0.1 มก/ล โดยไม่มีไซโตคินิน BAP และ 2iP

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