บทที่ 5

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตูบหมูบ

5.1 บทนำ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นเทคนิคพื้นฐานที่ช่วยในการขยายพันธุ์พืชเพื่ออนุรักษ์พันธุกรรมของพืชไว้ พืชวงศ์ขิงบางชนิดมีสถานะหายาก หรือใกล้สูญพันธุ์ เป็นไม้ดอกไม้ประดับ และเป็นพืชสมุนไพร ส่งผลให้ประชากรมีความเสี่ยงต่อการลดจำนวนลงจากการแสวงหาผลประโยชน์จากมนุษย์ ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถผลิตพืชให้มีคุณภาพดีสม่ำเสมอและขยายพันธุ์ได้ในปริมาณที่มากในระยะเวลาอันรวดเร็ว นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชยังเป็นแนวทางการเก็บรักษาพันธุกรรมของพืชวงศ์ขิงไว้ได้

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หมายถึง การนำเอาชิ้นส่วนใดชิ้นส่วนหนึ่งของพืชทั้งอวัยวะ เนื้อเยื่อ เซลล์ หรือเซลล์ที่ไม่มีผนังเซลล์ มาเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ ประกอบด้วยแร่ธาตุหลัก แร่ธาตุรอง น้ำตาล วิตามิน และฮอร์โมนกระตุ้นการเจริญเติบโตพืช โดยเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ภายใต้สภาวะควบคุมอุณหภูมิและแสง ชิ้นส่วนของพืชสามารถเจริญเติบโตและพัฒนาเกิดเป็นยอด ราก เอ็มบริโอ โปรโตคอร์ม หรือเกิดเป็นกลุ่มเซลล์ที่เรียกว่าแคลลัส ที่สามารถชักนำให้เกิดเป็นพืชต้นใหม่ที่สมบูรณ์ได้ (อรดี สหวัชรินทร์, 2539)

ตูบหมูบ (*Kaempferia marginata*) เป็นพืชที่พบได้ทั่วไปทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ส่วนภาคอื่นๆ พบจำนวนน้อย ตูบหมูบเป็นพืชล้มลุกอายุหลายปี เหง้าและใบมีกลิ่นหอม ใบมีขนาดใหญ่แผ่แบนติดผิวดิน ลักษณะเด่นที่แตกต่างจากตูบหมูบชนิดอื่นๆ คือ ขอบใบและผิวใบด้านล่างมีสีม่วงแดง ดอกมีสีสันสวยงาม จากการสัมภาษณ์การใช้ประโยชน์ตูบหมูบในอุทยานแห่งชาติภูแลนคา พบว่าใบอ่อนนำมารับประทานเป็นอาหาร นอกจากนี้ยังมีรายงานการศึกษาสมุนไพรพื้นบ้านในจังหวัดอุบลราชธานี พบว่าเหง้าตูบหมูบใช้ทำลูกประคบ แก้ฟกช้ำ แก้ไข้ แก้หวัด แก้กำเดา ขับลมในลำไส้ (http://www.qsbg.org, สืบค้นเมื่อ 14 กุมภาพันธ์ 2558) เหง้าตำพอกแก้อักเสบจากแมลงสัตว์กัดต่อย หรือใช้เหง้าตำผสมใบหนาด ต้มน้ำดื่มแก้อัมพาต (http://www.phargarden.com สืบค้นเมื่อ 14 กุมภาพันธ์ 2558) และจากวิจัยของ Picheansoonthon and Koonterm (2008) รายงานว่าเหง้าของตูบหมูบช่วยลดไข้ เนื่องจากตูบหมูบมีการใช้ประโยชน์มากในพื้นที่อุทยานแห่งชาติภูแลนคา ส่งผลให้ตูบหมูบมีจำนวนลดลง ซึ่งการขยายพันธุ์ตูบหมูบในสภาพธรรมชาติสามารถขยายพันธุ์ได้โดยใช้ส่วนของเหง้าและเมล็ด แต่สามารถขยายพันธุ์ได้ปีละครั้งเฉพาะฤดูฝน เนื่องตูบหมูบสามารถเจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่ที่มีความชุ่มชื้น แต่อย่างไรก็ตามเหง้าของตูบหมูบมีระยะการพักตัวทำให้การขยายพันธุ์ได้จำนวนน้อยต่อปี ทำให้ไม่เพียงพอต่อการนำไปใช้ประโยชน์ และนอกจากนี้ในการขยายพันธุ์โดยใช้เหง้าอาจมีการติดเชื้อโรคในดินสู่เหง้า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นการอนุรักษ์พันธุกรรมของตูบหมูบไว้นอกสภาพป่า โดยนำชิ้นส่วนตูบหมูบมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ ควบคุมอุณหภูมิและแสง เพื่อชักนำให้เกิดต้นใหม่ เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่สามารถขยายพันธุ์ตูบหมูบได้จำนวนมาก ในเวลารวดเร็ว และปลอดโรค

5.2 อาหารสังเคราะห์และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

สูตรอาหารสังเคราะห์สำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีจำนวนมาก ที่นิยมใช้กันมากที่สุด เช่น สูตรอาหาร Murashige and Skoog (MS) ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้ทุกชนิด และสูตรอาหาร Vacin and Went (VW) เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ (สุรวิทย์ สิมะรักษ์อำไพ, 2536) การเลือกใช้สูตรอาหารแต่ละสูตรขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของพืชชนิดนั้นๆ และเลือกใช้จากรายงานวิจัยมาก่อนหน้านี้ สูตรอาหารทุกสูตรประกอบด้วย ธาตุอาหารหลัก ได้แก่ ไนโตรเจน (N), ฟอสฟอรัส (P), โปแทสเซียม (K), แคลเซียม (Ca), แมกนีเซียม (Mg) และกำมะถัน (S) ธาตุอาหารรอง ได้แก่ เหล็ก (Fe), แมงกานีส (Mn), สังกะสี (Zn) ทองแดง (Cu) ไอโอดีน (I) และสารประกอบคาร์บอนที่ให้พลังงานแก่พืช ส่วนมากเลือกใช้น้ำตาลซูโครส อาจจะเติมวิตามินและสารอินทรีย์อื่นๆ เช่น น้ำมะพร้าว กล้วยบด รวมทั้งสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (สุรวิทย์ สิมะรักษ์อำไพ, 2536)

สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช (Plant growth regulator) มีการสร้างจากส่วนใดส่วนหนึ่งของพืชแล้วลำเลียงไปยังส่วนต่างๆ เพื่อกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาพืช ซึ่งมีดังนี้ (พีระเดช ทองอำไพ, 2558)

ไซโทไคนิน (Cytokinins) เป็นฮอร์โมนกลุ่มที่กระตุ้นการแบ่งเซลล์ของพืช กระตุ้นการแตกตาข้าง ฮอร์โมนที่พบในพืช ได้แก่ zeatin ส่วนฮอร์โมนสังเคราะห์ที่อยู่ในกลุ่มไซโทไคนิน ได้แก่ 6-benzlaminopurine (BAP), benzyladenine (BA), Kinetin และ Thiadiazuron (TDZ) ผลของไซโทไคนินต่อการเจริญเติบโตของพืช คือ เร่งการแบ่งเซลล์โดยกระตุ้นให้ลำต้นและรากเกิดการแบ่งตัว กระตุ้นการสร้างและพัฒนาตาดอก ชะลอการแก่ของพืชได้โดยส่งเสริมการสร้างการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ ทำให้ส่วนของพืชที่ได้รับไซโทไคนินมีอายุได้นาน

Thidiazuron (TDZ) หรือ 1-phenyl-3 (1,2,3-thidiazol-5-yl) urea) เป็นสารสังเคราะห์ชนิดหนึ่งออกฤทธิ์ต่อการการเจริญเติบโตของพืชได้คล้ายกับไซโทไคนิน คุณสมบัติของ TDZ เป็นสารประกอบที่ละลายน้ำได้น้อย สามารถละลายได้ดีโดยใช้เอทานอล สามารถกระตุ้นให้พืชเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาได้ดี เช่น กระตุ้นให้เกิดแคลลัส เอ็มบริโอ และให้เกิดตายอดเป็นจำนวนมากในเวลารวดเร็ว ทั้งที่ใช้ลำพังชนิดเดียว และใช้ร่วมกับฮอร์โมนตัวอื่น (วราภรณ์ ฉุยฉาย, 2552)

ออกซิน (Auxin) เป็นฮอร์โมนกลุ่มที่ช่วยขยายขนาดของเซลล์ ขยายขนาดของใบ การเกิดราก ขนาดของผล ป้องกันการหลุดร่วงของใบ ดอก ผล ยับยั้งการแตกตาข้าง ฮอร์โมนที่พบในพืช ได้แก่ indole-3-acetic acid (IAA) มีการสร้างมากบริเวณปลายยอด ปลายราก และส่วนที่มีเนื้อเยื่อเจริญ ส่วนฮอร์โมนสังเคราะห์ที่อยู่ในกลุ่มออกซิน ได้แก่ α-naphthalene acetic acid (NAA), 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) และ Indole-3-butyric acid (IBA) ผลของออกซินต่อการเจริญเติบโตของพืช กระตุ้นการแบ่งเซลล์ของเนื้อเยื่อเจริญ กระตุ้นให้มีการสร้างผนังเซลล์มากขึ้น เพื่อให้เซลล์ส่วนต่างๆ ของพืชยืดยาวขึ้น กระตุ้นการเจริญเติบโตของตาข้าง ออกซินเมื่อใช้ในปริมาณที่พอเหมาะสามารถกระตุ้นการเกิดราก

จิบเบอเรลลิน (Gibberellins) เป็นฮอร์โมนกลุ่มที่ช่วยการยืดตัวของเซลล์ กระตุ้นการงอกของเมล็ด ฮอร์โมนที่พบในพืช ได้แก่ gibberellins A (GA) ซึ่งมีการนำมาใช้มากในด้านเกษตร คือ Gibberellic acid (GA_3) ซึ่งพืชสามารถสร้างขึ้นมาเองได้ แต่มีปริมาณน้อย ในทางด้านเกษตรสามารถสกัด GA_3 ออกมาใช้ซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อราบางชนิด

เอทิลีน (Ethylene) เป็นก๊าซชนิดหนึ่งซึ่งจัดเป็นฮอร์โมนพืชเนื่องจากพืชสามารถสร้างขึ้นมาใช้ได้เอง ผลของเอทิลีนต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยควบคุมการแก่ การสุก และการออกดอกของพืชบางชนิด กระตุ้นการหลุดร่วงของใบ การเหลืองของใบ และเร่งการสุกของผล

5.3 ชิ้นส่วนของพืชสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ส่วนของเซลล์พืชที่ยังมีชีวิตอยู่สามารถนำมาใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ แต่การเจริญเติบโตอาจจะแตกต่างกันเพราะเซลล์แต่ละชนิดมีการแบ่งเซลล์ไม่เท่ากัน บริเวณเซลล์ที่มีการแบ่งเซลล์มากที่สุดคือเนื้อเยื่อเจริญ (meristematic tissue) (สุรวิทย์ สิมะรักษ์อำไพ, 2536) จากรายงานวิจัยที่มีการศึกษาพืชวงศ์ขิงมาก่อนโดยนำชิ้นส่วนต่างๆ ไปเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อขยายพันธุ์ในหลอดทดลอง มีดังนี้

5.3.1 ชิ้นส่วนของเหง้า เป็นลำต้นในดินที่ฝังอยู่ใต้ดินและเหนือผิวดิน มีตาเหง้าเพื่อเจริญเป็นลำต้นใหม่ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้ส่วนของเหง้ามีรายงานมาก่อน เช่น พันธิตรา กมล และคณะ (2555) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจากตาเหง้าในขมิ้นขาว (*Curcuma manga*) Swapna *et al.* (2003) ศึกษาการเพิ่มจำนวน *Kaempferia galanga* ในหลอดทดลอง โดยใช้ของเหง้า Prakash *et al.* (2004) ใช้ส่วนของเหง้าชักนำ *Curcuma amada* ให้เกิดเป็นยอดใหม่ Chirangini *et al.* (2005) ศึกษาการขยายพันธุ์ในหลอดทดลองจากการเพาะเลี้ยงตาเหง้าของ *K. galanga* และ *K. rotunda* เพื่อชักนำให้เกิดยอดใหม่ Kalpana and Anbazhagan (2009) ใช้ส่วนของตาเหง้าของ *K. galanga* ขยายพันธุ์ในหลอดทดลอง Zhang *et al.* (2011) ใช้ส่วนของตาเหง้าขยายพันธุ์ *C. kwangsiensis* ในหลอดทดลอง Mohanty *et al.* (2011) ศึกษาการขยายพันธุ์ *K. galanga* ในหลอดทดลองโดยใช้ส่วนของเหง้า Kochuthressia *et al.* (2012) ศึกษาการเพิ่มจำนวนยอด *K. galanga* โดยนำเหง้ามาเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มจำนวนยอด

5.3.2 ใช้ส่วนของใบอ่อน Rahman *et al.* (2004) ใช้ใบอ่อนของ *K. galanga* นำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เพื่อชักนำใบอ่อนให้เกิดเป็นแคลลัสและโซมาติกเอ็มบริโอ Prakash *et al.* (2004) ใช้ใบอ่อนชักนำ *Curcuma amada* ให้เกิดเป็นแคลลัส Saensouk (2011) ใช้ใบอ่อนของ *Cornukaempferia aurantiflora* ชักนำให้เกิดแคลลัส

5.3.3 ใช้ส่วนของหน่อย่อย (ภัทราพร พิมพ์หมื่น และคณะ, 2557) เพาะเลี้ยงหน่อย่อยของกระทือ (*Globba marantina*) เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสและต้นอ่อน

5.3.4 ใช้ส่วนของเมล็ดหรือเอ็มบริโอ (ณัฐพงศ์ จันจุฬา, 2554) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเอ็มบริโอ และการเพิ่มปริมาณยอดของหงส์เหิน (*Globba* L.)

5.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

พันธิตรา กมล และคณะ (2555) ศึกษาการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนตาเหง้าขมิ้นขาว (*Curcuma manga*) ในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารกึ่งแข็งสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ 6-benzyladenine (BA), Kinetin และ Thiadiazuron (TDZ) ความเข้มข้น 0, 1.0, 2.0 และ 5.0 มก./ล. เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม

Kinetin ความเข้มข้น 5.0 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดมากที่สุด 2.7 ยอดต่อชิ้นตัวอย่าง และจำนวนรากมากที่สุด 7.3 รากต่อชิ้นตัวอย่าง และอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 มก./ล. ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2 และ 5 มก./ล. เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าตาเหง้าที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มก./ล. เพียงอย่างเดียว สามารถชักนำตาเหง้าให้เกิดจำนวนยอดได้สูงสุด 3.6 ยอดต่อชิ้นตัวอย่าง และ อาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดรากได้สูงสุด 8.2 รากต่อชิ้นตัวอย่าง

ภัทราพร พิมพ์หมื่น และคณะ (2557) ศึกษาการขยายพันธุ์กระทือ (*Globba marantina*) ในหลอดทดลอง โดยนำหน่อย่อยของกระทือที่ผ่าครึ่งตามยาวไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ NAA เพื่อชักนำหน่อย่อยให้เกิดเป็นแคลลัสและยอดใหม่ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 40% และพบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ล. สามารถชักนำต้นอ่อนให้เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุด 7.10 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช และพบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. สามารถชักนำต้นอ่อนให้เกิดรากได้ดีที่สุด มีจำนวนรากเฉลี่ย 25.33 รากต่อชิ้นส่วนพืช

Swapna *et al.* (2003) ศึกษาการเพิ่มจำนวน *Kaempferia galanga* ในหลอดทดลอง โดยใช้เหง้าและใบอ่อนนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน indole-3-acetic acid (IAA), 6-benzlaminopurine (BAP), α-naphthalene acetic acid (NAA), 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) และ Kinetin ความเข้มข้น 0.5-2.5 มก./ล. พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม IAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 2 มก./ล. สามารถชักนำเหง้าให้เกิดเป็นยอดใหม่ได้สูงสุด 79% และสูตรอาหารรองลงมาที่สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีคือ อาหารสูตร MS ที่เติม IAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 2.5 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ 78% และพบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม IAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 2.5 มก./ล. สามารถชักนำใบอ่อนให้เกิดเป็นยอดใหม่ได้ดีที่สุด 61%

Prakash *et al.* (2004) ศึกษาผลของฮอร์โมน 2,4-D, BAP, Kinetin และ NAA ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดใหม่ของ *Curcuma amada* พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 11.25 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำใบอ่อนให้เกิดเป็นแคลลัสได้ดีที่สุด 80% และพบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 8.88 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 2.70 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำเหง้าให้เกิดเป็นยอดใหม่ได้มากที่สุด 7.8 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช มีความยาวยอดเฉลี่ย 10.3 ซม.

Rahman *et al.* (2004) ศึกษาการเกิดเป็นต้นใหม่จากแคลลัสและโซมาติกเอ็มบริโอของ *K. galanga* โดยนำใบอ่อนมาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1.5 มก./ล. ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 สัปดาห์ สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงสุด 85% แคลลัสมีสีขาวครีม เมื่อย้ายแคลลัสไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS สูตรใหม่เพื่อชักนำให้เกิดเป็นโซมาติกเอ็มบริโอ หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอได้สูงสุด 75%

Chirangini *et al.* (2005) ศึกษาการขยายพันธุ์ในหลอดทดลองจากการเพาะเลี้ยงตาเหง้าของ *K. galanga* และ *K. rotunda* เพื่อชักนำให้เกิดยอด พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 4.44 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำ *K. galanga* ให้เกิดเป็นยอดได้ดีที่สุด มีจำนวนยอดเฉลี่ย 8.75±2.18 ยอดต่อชิ้นตัวอย่าง และอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.69 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำ *K. rotunda* ให้เกิดยอดได้ดีที่สุด มีจำนวนยอดเฉลี่ย 6.10±0.34 ยอดต่อชิ้นตัวอย่าง

Rahman *et al.* (2005) ศึกษาการขยายพันธุ์ของ *K. galanga* ในหลอดทดลอง โดยใช้ส่วนปลายเหง้าและตาข้างเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.2, 0.5, 1, 2 และ 3 มก./ล. หลังการเพาะเลี้ยง 6 สัปดาห์ พบว่าเหง้าที่เลี้ยงในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงสุด 8.5 ยอดต่อชิ้นตัวอย่าง ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 5.57 ซม. จากนั้นนำยอดที่ได้ไปชักนำให้ราก โดยเพาะเลี้ยงในอาหารครึ่งสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA, IBA และ IAA ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.5 และ 1 มก./ล. หลังการเพาะเลี้ยง 6 สัปดาห์ พบว่ายอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.2 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดรากมากที่สุดจำนวน 12.4±1.23 รากต่อยอด ความยาวรากเฉลี่ย 7.2±0.23 ซม. รองลงมาคือ NAA ความเข้มข้น 0.2 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดรากจำนวน 9.66±1.23 รากต่อยอด ความยาวรากเฉลี่ย 6.5±0.2 ซม. เมื่อทดสอบผลร่วมระหว่างฮอร์โมนกลุ่มไซโตไคนินร่วมกับฮอร์โมนกลุ่มออกซิน พบว่าเหง้าที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.2 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงสุด 20.5±1.8 ยอดต่อชิ้นตัวอย่าง ความยาวยอดเฉลี่ย 5.33±0.1 ซม.

Kalpana and Anbazhagan (2009) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาเหง้า *K. galanga* ในหลอดทดลองโดยนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ BA, NAA, IBA และ IAA ความเข้มข้น 0.1-3.0 มก./ล. เพื่อชักนำให้เกิดยอดและต้นใหม่ พบว่าตาเหง้าที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.2 มก./ล. เมื่อเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุด 85% มีจำนวนยอดเฉลี่ย 19.40±0.42 ยอดต่อชิ้นตัวอย่าง และมีความยาวยอดเฉลี่ย 6.10±0.32 ซม. จากนั้นนำยอดไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA, IBA และ IAA เพื่อชักนำให้เกิดราก พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุด 96% มีจำนวนรากเฉลี่ย 10.40±0.84 รากต่อยอด และมีความยาวของรากเฉลี่ย 6.30±0.34 ซม.

Theanphong *et al.* (2010) ศึกษาผลของฮอร์โมน BA, Kinetin และ NAA เพื่อชักนำให้เกิดยอดและรากใหม่จากเหง้าของ *Curcuma aeruginosa* พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. สามารถชักนำเหง้าให้เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุด 1.29 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช มีความยาวยอดเฉลี่ย 3.56 ซม. และสามารถชักนำเหง้าให้เกิดรากใหม่ได้ดีที่สุด มีจำนวนรากเฉลี่ย 10 รากต่อชิ้นส่วนพืช

Mohanty *et al.* (2011) ศึกษาการขยายพันธุ์จากตาข้างของ *K. galanga* โดยใช้ฮอร์โมน BA, GA, Kinetin, IAA และ NAA จากการศึกษาพบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. สามารถชักนำตาข้างให้เกิดเป็นยอดใหม่ได้มากที่สุด 90% โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 10.1 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช และสามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด มีจำนวนรากเฉลี่ย 5.5 รากต่อชิ้นส่วนพืช

Raihana *et al.* (2011) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตาเหง้าของ *Curcuma manga* ในหลอดทดลอง พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 9 มก./ล. สามารถชักนำตาเหง้าให้เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุด 3.3 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช มีความยาวยอดเฉลี่ย 2.1 ซม. จากการศึกษาผลร่วมระหว่างฮอร์โมน พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มก./ล. สามารถชักนำตาเหง้าให้เกิดเป็นยอดใหม่ได้ดี โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 2.2 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช มีความยาวยอดเฉลี่ย 3.4 ซม. มีจำนวนรากเฉลี่ย 10.7 รากต่อชิ้นส่วนพืช มีความยาวรากเฉลี่ย 1.2 ซม.

Saensouk (2011) ศึกษาการชักนำให้เกิดแคลลัสและการเกิดเป็นต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของ *Cornukaempferia aurantiflora* โดยนำใบอ่อนมาชักนำให้เกิดแคลลัสในสูตรอาหาร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 3% และเติมฮอร์โมน 2,4-D ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1, 2 และ 4 มก./ล. พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2 มก./ล. หลังเพาะเลี้ยง 16 สัปดาห์ สามารถชักนำใบอ่อนให้เกิดแคลลัสได้มากที่สุด 95% น้ำหนักสดแคลลัสเฉลี่ย 2.50 กรัม จากนั้นชักนำแคลลัสให้เกิดยอดและเป็นต้นใหม่ โดยใช้สูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0, 0.1 และ 0.2 มก./ล. ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0, 2 และ 5 มก./ล. พบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 5 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงสุด 50%

Zhang *et al.* (2011) ศึกษาการเกิดแคลลัสและการเกิดต้นใหม่จากตาข้างของ *Curcuma kwangsiensis* ในหลอดทดลอง โดยนำส่วนของตาข้างไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA, NAA, 2,4-D และ TDZ พบว่าอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 4.4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 2.3 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 1.4 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำตาข้างให้เกิดเป็นแคลลัสได้สูงสุด 91% และพบว่าอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 17.8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 2.7 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 1.4 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำตาข้างให้เกิดเป็นยอดใหม่ได้มากที่สุด มีจำนวนยอดเฉลี่ย 8.2 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช และความยาวยอดเฉลี่ย 8.8 ซม.

Kochuthressia *et al.* (2012) ศึกษาการเพิ่มจำนวนยอด *K. galanga* ในหลอดทดลอง โดยนำเหง้าที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วมาเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม BAP และ Kinetin ความเข้มข้น 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 มก./ล. หลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุด 7.14±1.34 ยอดต่อชิ้นตัวอย่าง ความยาวยอดเฉลี่ย 5.57 ซม. จำนวนราก 14.71 รากต่อชิ้นตัวอย่าง และอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ความเข้มข้น 2 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด 6.42 ยอดต่อชิ้นตัวอย่าง ความยาวยอดเฉลี่ย 5.57 ซม. จำนวนรากเฉลี่ย 9.71 ซม. จากนั้นศึกษาผลร่วมระหว่างฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 2 มก./ล. ร่วมกับ Kinetin ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1, 1.5, 2 และ 2.5 มก./ล. หลังเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มก./ล. ร่วมกับ Kinetin ความเข้มข้น 1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงสุด 10.85 ยอดต่อชิ้นตัวอย่าง ความยาวยอดเฉลี่ย 6.14 ซม. จำนวนราก 12.14 รากต่อชิ้นตัวอย่าง

Shahinozzaman *et al.* (2013) ศึกษาการขยายพันธุ์ในหลอดทดลองจากตาข้างของ *Curcuma caesia* จากการศึกษาพบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมลาร์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ สามารถชักนำตาข้างให้เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุด 10.38 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช มีความยาวยอดเฉลี่ย 4.53 ซม. เมื่อนำต้นอ่อนไปเพาะเลี้ยงบนอาหารครึ่งสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 3.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ สามารถชักนำต้นอ่อนให้เกิดรากใหม่ได้ดีที่สุด มีจำนวนรากเฉลี่ย 9.73 รากต่อชิ้นส่วนพืช

5.5 วิธีดำเนินการวิจัย

5.5.1 วัสดุอุปกรณ์

5.5.1.1 ปากคีบ (Forceps)

5.5.1.2 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)

5.5.1.3 เตาอบความร้อน (Hot air oven)

5.5.1.4 เครื่องชั่ง (Balances)

5.5.1.5 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

5.5.1.6 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)

5.5.1.7 ขวดสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

5.5.1.8 มีดผ่าตัด (Scalpel)

5.5.1.9 ช้อนตักสารและแท่งแก้วคนสาร (Spalula and stirring rod)

5.5.1.10 กระดาษอลูมิเนียม (Aluminum foil)

5.5.1.11 บีกเกอร์และกระบอกตวง (Beaker and Measuring cylinder)

5.5.2 สารเคมี

5.5.2.1 อาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)

5.5.2.2 น้ำตาล (Sugar)

5.5.2.3 วุ้น (Bacto agar)

5.5.2.4 6-benzyladenine (BA)

5.5.2.5 Kinetin

5.5.2.6 Thiadiazuron (TDZ)

5.5.2.7 α-naphthalene acetic acid (NAA)

5.5.2.8 Indole-3-butyric acid (IBA)

5.5.2.9 Indole-3-acetic acid (IAA)

5.5.2.10 เอทิลแอลกอฮอล์ (ethylalcohol) 70%

5.5.2.11 Hydrochloric acid (HCl)

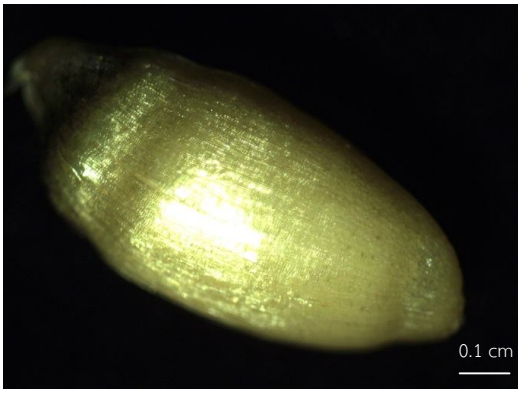
5.5.2.12 น้ำกลั่น (Distilled water)

5.5.3 วิธีการศึกษา

การทดลองที่ 1 การชักนำเมล็ดตูบหมูบให้เกิดต้นใหม่ในหลอดทดลอง

นำเมล็ดของตูบหมูบที่พบในอุทยานแห่งชาติภูแลนคา (ภาพประกอบ 5.1) นำมาล้างให้สะอาดด้วยน้ำปะปาไหลผ่านเป็นเวลา 10 นาที ล้างเมล็ดด้วย dish drop จากนั้นนำไปแช่น้ำยาฆ่าเชื้อด้วย pursue ความเข้มข้น 15% เป็นเวลา 15 นาที นำเมล็ดไปฟอกฆ่าเชื้อผิวด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite) ความเข้มข้น 15% เติม Tween 20 จำนวน 2 หยด เพื่อลดแรงที่ผิว เป็นเวลา 20 นาที ฟอกด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10% เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง และแช่เมล็ดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 95% เป็นเวลา 2 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 1 ครั้ง เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS (Murashige & Skoog, 1962) ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 ก./ล. เติมวุ้น 8 ก./ล. เติมสารควบคุมการ

เจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0, 0.1 และ 2 มก./ล. และ NAA ความเข้มข้น 0 และ 0.1 มก./ล. ทำการทดลองอย่างละ 6 ซ้ำ นำไปเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้รับแสงฟลูออเรสเซนต์ 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25±2 ˚C เป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การงอก จากนั้นนำยอดที่ได้ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มก./ล. เพื่อเพิ่มจำนวนยอดให้ได้ปริมาณมากโดยเปลี่ยนอาหารใหม่ทุกๆ 4 สัปดาห์



ภาพประกอบ 5.1 เมล็ดตูบหมูบที่นำมาเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง

การทดลองที่ 2 ผลของฮอร์โมนไซโทไคนินต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดยอด

ทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มปริมาณจำนวนยอดให้ได้มากที่สุด โดยนำต้นอ่อนตูบหมูบขนาด 1 ซม. ไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนิน BA, Kinetin และ TDZ ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 มก./ล. ตามลำดับ ทำการทดลองอย่างละ 10 ซ้ำ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโต จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย

การทดลองที่ 3 ผลของฮอร์โมนออกซินในการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดราก

ทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มจำนวนรากให้ได้มากที่สุด โดยนำต้นอ่อนตูบหมูบขนาด 1 ซม. ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนกลุ่มออกซิน ได้แก่ NAA, IBA และ IAA ความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1 และ 2 มก./ล. ตามลำดับ ทำการทดลองอย่างละ 10 ซ้ำ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกจำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย

5.5.4 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) และวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี One-Way ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละหน่วยทดลองด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) (Version 11.5 for Windows)

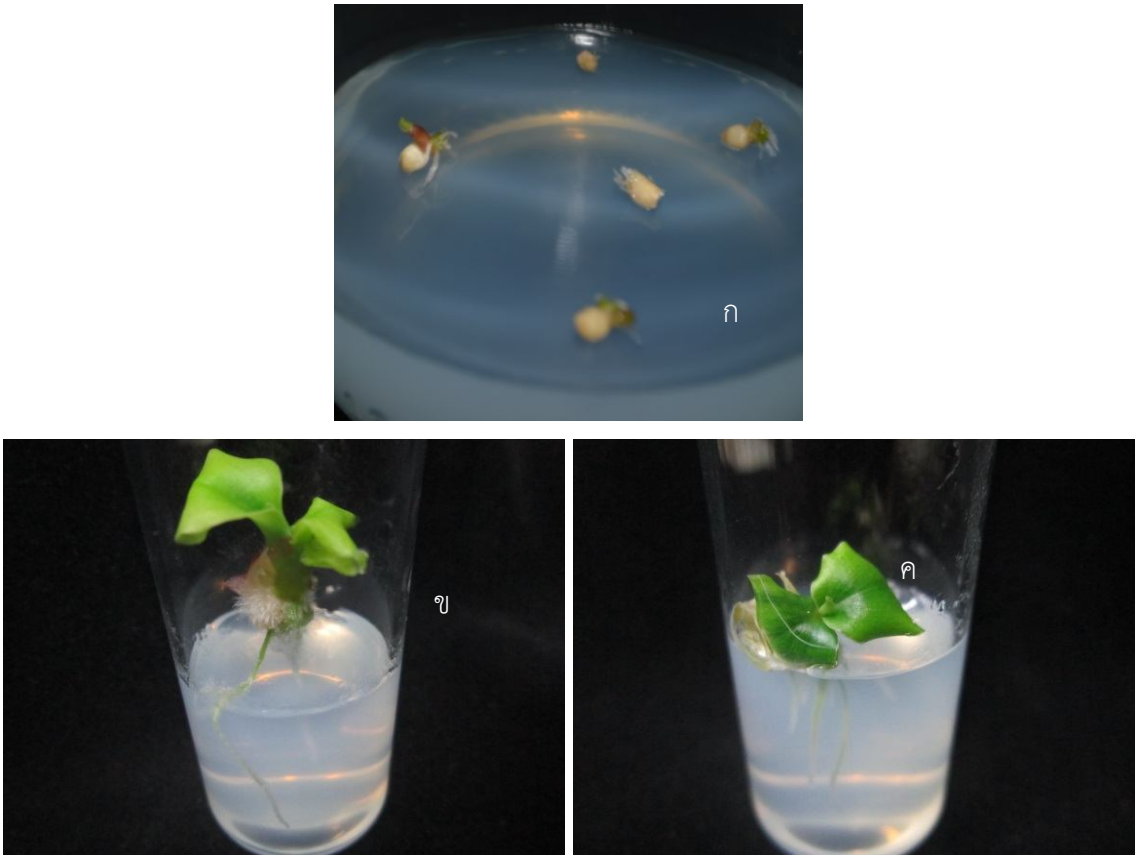
5.6 ผลการวิจัย

การชักนำเมล็ดตูบหมูบให้เกิดต้นใหม่ในหลอดทดลอง

เมื่อนำเมล็ดตูบหมูบมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 0, 0.1 และ 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 และ 0.1 มก./ล. เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าเมล็ดที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. สามารถชักนำเมล็ดตูบหมูบให้เกิดต้นใหม่ได้สูงสุด 83.3% เมล็ดเริ่มงอกเป็นต้นอ่อนหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน งอกทางด้านแหลมของเมล็ด ขณะที่เมล็ดที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้ 66.6% แต่เมล็ดตูบหมูบที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติมฮอร์โมนไม่สามารถเกิดเป็นต้นใหม่ได้ (ตาราง 5.1 และภาพประกอบ 5.2)

ตาราง 5.1 ผลของฮอร์โมน BA และ NAA ต่อการชักนำเมล็ดตูบหมูบให้เกิดเป็นต้นใหม่ หลังการเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์

ความเข้มข้น BA (มก./ล.)	ความเข้มข้น NAA (มก./ล.)	จำนวนทั้งหมดที่เพาะเลี้ยง	เปอร์เซ็นต์การเกิดต้นใหม่
0	0	6	0
0.1	0.1	6	83.3
2	0.1	6	66.6



ภาพประกอบ 5.2 ผลของฮอร์โมนต่อการชักนำเมล็ดตูบหมูบให้เกิดต้นใหม่ในหลอดทดลอง เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์
ก. ไม่เติมฮอร์โมน
ข. BA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล.
ค. BA ความเข้มข้น 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล.

ผลของฮอร์โมนไซโทไคนินต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดยอด

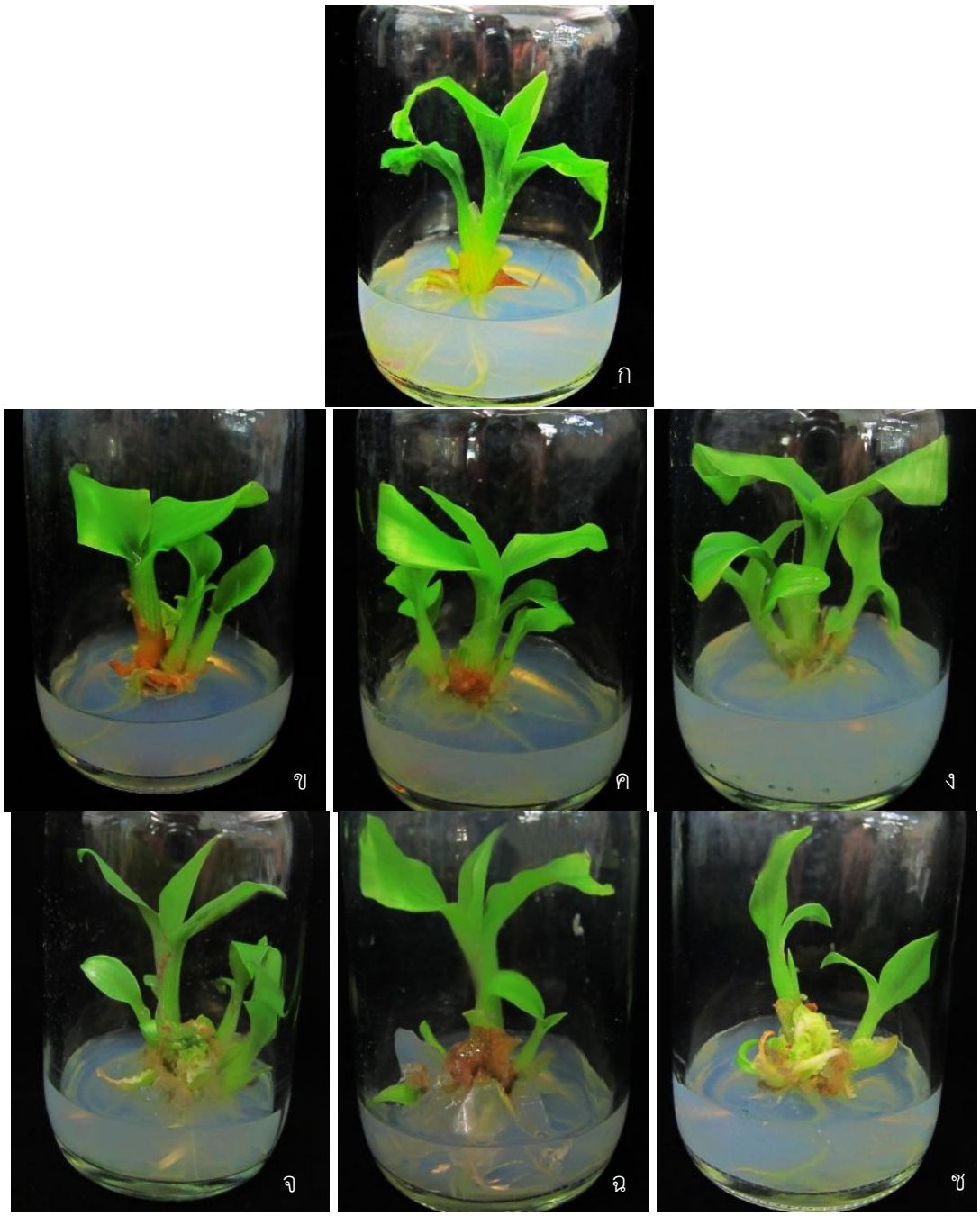
จากการทดลองเพิ่มจำนวนยอดของตูบหมูบโดยนำต้นอ่อนไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 มก./ล. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้จำนวนมากที่สุด โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 3.10 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ย 3.41 ซม. ต้นใหม่ที่เกิดขึ้นมีลักษณะต้นใหญ่และอวบ ลำต้นมีสีเขียว บริเวณโคนต้นมีสีเขียวและสีน้ำตาล บริเวณปลายยอดมีสีเขียว ใบสีเขียว มีขนาดใหญ่และแผ่แบน ส่วนต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่เติม Kinetin ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 มก./ล. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม Kinetin ความเข้มข้น 2 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่มากที่สุด 1.80 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ย 2.47 ซม. ลักษณะต้นใหม่ที่เกิดขึ้น พบว่าลำต้นมีขนาดปานกลาง ลำต้นมีสีเขียว โคนต้นมีสีเขียวและสีน้ำตาล ปลายยอดมีสีเขียว ใบสีเขียวและแผ่แบน เมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 มก./ล. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุด 5.00 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ย 1.83 ซม. ต้นใหม่ที่เกิดขึ้นมีลักษณะลำต้นเล็กและอวบพองออกด้านข้าง ลำต้นมีสีเขียว บริเวณโคนต้นมีสีเขียวและสีน้ำตาล บริเวณปลายยอดมีสีเขียว ใบสีเขียว มีขนาดเล็กและแผ่แบน

เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่า จำนวนยอดเฉลี่ย ในสูตรอาหารที่เติม BA, Kinetin และ TDZ มีความแตกต่างกันทางสถิติ ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมฮอร์โมน TDZ มีแนวโน้มให้จำนวนยอดเฉลี่ยได้ดีกว่า BA และ Kinetin ในขณะที่อาหารที่เติม BA มีแนวโน้มให้ความยาวเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ยได้ดีกว่าอาหารที่เติม Kinetin และ TDZ โดยอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. ให้ความยาวยอดเฉลี่ยได้ดีที่สุด 3.41 ซม. อาหารที่เติม BA 3 มก./ล. สามารถชักนำต้นอ่อนให้เกิดรากได้มากที่สุด 6.20 รากต่อชิ้นส่วนพืช และอาหารที่เติม BA 2 มก./ล. ให้ความยาวรากเฉลี่ยได้ดีที่สุด 2.55 ซม. (ตาราง 5.2 และภาพประกอบ 5.3-5.5)

ตาราง 5.2 ผลฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนินต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เพิ่มจำนวนยอด หลังการเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

ฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนิน	ความเข้มข้น (มก./ล.)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอดต่อชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนรากเฉลี่ย (รากต่อชิ้นส่วนพืช)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
BA	0	2.00±0.29^{cd*}	3.21±0.34^{a}	5.50±0.58^{ab}	2.06±0.12^{abcd}
	0.5	3.10±0.97^{abc}	3.07±1.66^{a}	5.50±0.84^{ab}	2.43±0.34^{ab}
	1	2.40±0.49^{bcd}	1.95±0.32^{bc}	5.60±1.22^{ab}	1.63±0.32^{bcde}
	2	2.80±0.89^{bcd}	2.54±0.17^{abc}	5.40±0.96^{ab}	2.55±0.26^{a}
	3	2.50±0.58^{bcd}	2.26±0.32^{abc}	6.20±1.28^{a}	1.87±0.14^{abcde}
	4	2.70±0.71^{bcd}	1.93±0.25^{bc}	5.30±0.86^{ab}	2.18±0.28^{abc}
	5	2.90±1.16^{bcd}	2.50±0.15^{abc}	5.30±1.92^{ab}	1.44±0.11^{cde}
Kinetin	0.5	1.50±0.30^{cd}	2.59±0.36^{ab}	5.10±1.13^{ab}	1.27±0.11^{de}
	1	1.50±0.58^{cd}	1.81±0.42^{bc}	3.30±1.04^{abc}	1.37±0.20^{cde}
	2	1.80±0.57^{cd}	2.47±0.50^{abc}	4.10±1.55^{abc}	1.87±0.24^{abcde}
	3	1.70±0.49^{cd}	1.60±0.39^{bc}	3.80±1.05^{abc}	1.49±0.27^{cde}
	4	1.70±0.63^{cd}	1.78±0.40^{bc}	2.60±0.73^{bc}	1.46±0.25^{cde}
	5	0.80±0.20^{d}	1.41±0.35^{c}	1.10±0.60^{c}	1.05±0.10^{e}
TDZ	0.5	2.50±0.40^{bcd}	1.68±0.17^{bc}	2.40±0.63^{bc}	1.90±0.44^{abcde}
	1	3.50±0.42^{abc}	1.83±0.24^{bc}	3.33±1.08^{abc}	1.80±0.25^{abcde}
	2	5.00±0.94^{a}	1.83±0.16^{bc}	2.22±0.66^{bc}	1.39±0.17^{cde}
	3	3.40±0.42^{abc}	1.72±0.17^{bc}	2.80±0.48^{abc}	2.13±0.54^{abcd}
	4	1.77±0.27^{cd}	1.77±0.22^{bc}	1.33±0.37^{c}	1.28±0.11^{de}
	5	4.22±0.52^{ab}	1.72±0.23^{bc}	1.55±0.47^{c}	1.35±0.15^{cde}

หมายเหตุ *= อักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT



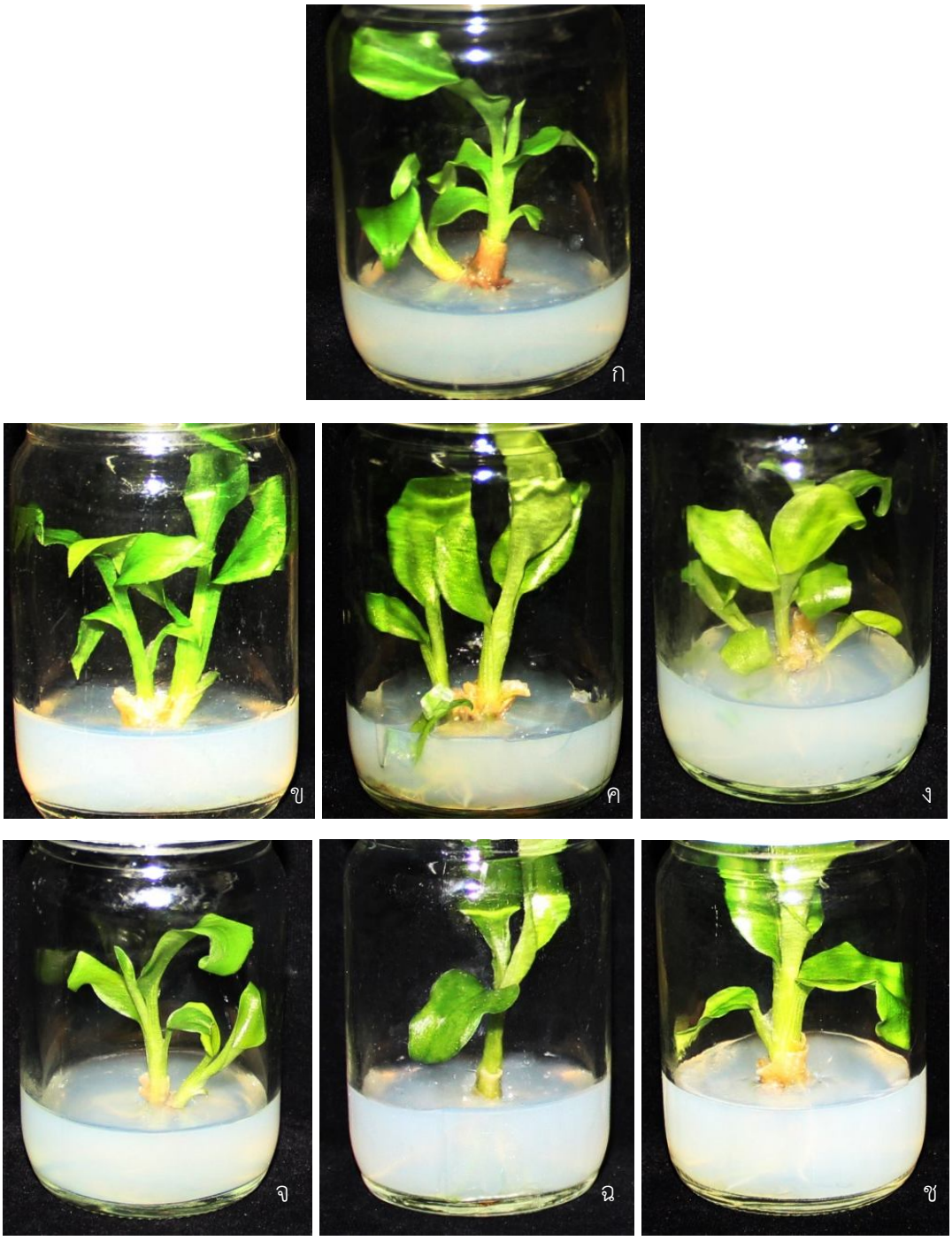
ภาพประกอบ 5.3 ผลของฮอร์โมน BA ต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดต้นใหม่ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ก. ไม่เติมฮอร์โมน

ข. BA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. ค. BA ความเข้มข้น 1 มก./ล.

ง. BA ความเข้มข้น 2 มก./ล. จ. BA ความเข้มข้น 3 มก./ล.

ฉ. BA ความเข้มข้น 4 มก./ล. ช. BA ความเข้มข้น 5 มก./ล.



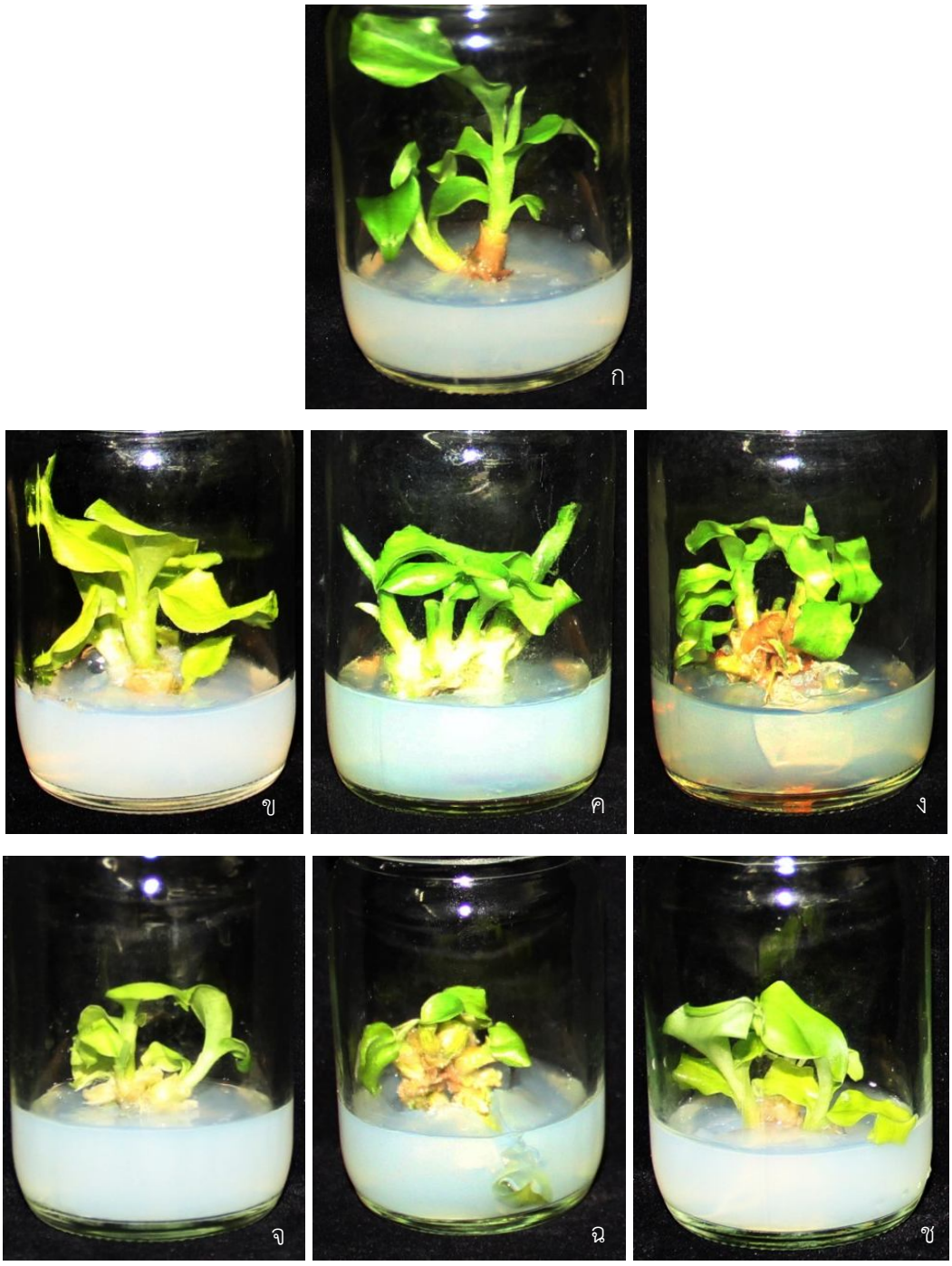
ภาพประกอบ 5.4 ผลของฮอร์โมน Kinetin ต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดต้นใหม่ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ก. ไม่เติมฮอร์โมน

ข. Kinetin ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. ค. Kinetin ความเข้มข้น 1 มก./ล.

ง. Kinetin ความเข้มข้น 2 มก./ล. จ. Kinetin ความเข้มข้น 3 มก./ล.

ฉ. Kinetin ความเข้มข้น 4 มก./ล. ช. Kinetin ความเข้มข้น 5 มก./ล.



ภาพประกอบ 5.5 ผลของฮอร์โมน TDZ ต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดต้นใหม่ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ก. ไม่เติมฮอร์โมน

ข. TDZ ความเข้มข้น 0.5 มก./ล.

ค. TDZ ความเข้มข้น 1 มก./ล.

ง. TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ล.

จ. TDZ ความเข้มข้น 3 มก./ล.

ฉ. TDZ ความเข้มข้น 4 มก./ล.

ช. TDZ ความเข้มข้น 5 มก./ล.

ผลของฮอร์โมนออกซินในการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดราก

จากการทดลองเพิ่มจำนวนรากของตูบหมูบโดยนำต้นอ่อนไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1 และ 2 มก./ล. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. สามารถชักนำต้นอ่อนให้เกิดรากใหม่ได้จำนวนมากที่สุด โดยมีจำนวนรากเฉลี่ย 8.33 รากต่อชิ้นส่วนพืช มีความยาวรากเฉลี่ย 1.68 ซม. ลักษณะรากใหม่ที่เกิดขึ้น พบว่าบริเวณโคนรากมีสีเขียวและสีขาว บริเวณปลายรากสีขาว ไม่มีขน ส่วนอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 มก./ล. สามารถชักนำต้นอ่อนให้เกิดยอดใหม่ได้ดีสุด 3.11 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช มีความยาวยอดเฉลี่ย 2.75 ซม. ลักษณะต้นใหม่ที่เกิดขึ้น ต้นใหญ่ ไม่อวบ ลำต้นมีสีเขียว บริเวณโคนต้นมีสีเขียวและสีน้ำตาล บริเวณปลายยอดมีสีเขียว ใบสีเขียว มีขนาดใหญ่และแผ่แบน (ตาราง 5.3 และภาพประกอบ 5.6-5.7) ส่วนต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่เติม IBA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1 และ 2 มก./ล. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม IBA ความเข้มข้น 1 มก./ล. สามารถชักนำต้นอ่อนให้เกิดรากใหม่มากที่สุด 8.55 รากต่อชิ้นส่วนพืช มีความยาวรากเฉลี่ย 2.32 ซม. บริเวณโคนรากมีสีเขียว ปลายรากสีขาว ไม่มีขนราก ส่วนอาหารที่เติม IBA ความเข้มข้น 1 มก./ล. สามารถชักนำต้นอ่อนให้เกิดยอดได้ดีที่สุด 3.22 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช มีความยาวยอดเฉลี่ย 3.37 ซม. ลักษณะต้นใหม่ที่เกิดขึ้น ต้นใหญ่และอวบ ลำต้นมีสีเขียว บริเวณโคนต้นมีสีเขียวและสีน้ำตาล บริเวณปลายยอดมีสีเขียว ใบสีเขียว มีขนาดใหญ่และแผ่แบน (ตาราง 5.3 และภาพประกอบ 5.8-5.9) เมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารที่เติม IAA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1 และ 2 มก./ล. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม IAA ความเข้มข้น 1 มก./ล. สามารถชักนำต้นอ่อนให้เกิดรากใหม่ได้มากที่สุด 3.77 รากต่อชิ้นส่วนพืช มีความยาวรากเฉลี่ย 2.24 ซม. ลักษณะรากใหม่ที่เกิดขึ้น พบว่าบริเวณโคนรากมีสีเขียว ปลายรากมีสีขาว มีขนราก ส่วนอาหารที่เติม IAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. สามารถชักนำต้นอ่อนให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด 2.11 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช มีความยาวยอดเฉลี่ย 2.22 ซม. (ตาราง 5.3 และภาพประกอบ 5.10-5.11)

เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่า จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวยอดเฉลี่ย ในอาหารที่เติม NAA, IBA และ IAA มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร NAA และ IBA สามารถชักนำให้เกิดรากใหม่ได้ดีกว่า IAA โดยอาหารที่เติม IBA ความเข้มข้น 1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดรากใหม่ได้จำนวนมากที่สุด 8.55 รากต่อชิ้นส่วนพืช

ตาราง 5.3 ผลของฮอร์โมนกลุ่มออกซินต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เพิ่มจำนวนราก หลังการเพาะเลี้ยง 8 สัปดาห์

ฮอร์โมนกลุ่มออกซิน	ความเข้มข้น (มก./ล.)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอดต่อชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนรากเฉลี่ย (รากต่อชิ้นส่วนพืช)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
NAA	0	2.00±0.29^{abc*}	3.21±0.34^{ab}	5.50±0.58^{abc}	2.06±0.12^{abc}
	0.1	2.60±0.37^{abc}	2.71±0.31^{b}	8.00±0.66^{a}	2.06±0.15^{abc}
	0.5	1.88±0.20^{abc}	2.83±0.20^{b}	8.33±0.94^{a}	1.68±0.15^{bc}
	1	3.11±0.48^{ab}	2.75±0.29^{b}	5.77±1.49^{abc}	1.84±0.41^{bc}
	2	2.33±0.49^{abc}	2.58±0.49^{b}	7.16±1.55^{ab}	1.90±0.25^{bc}
IBA	0.1	1.50±0.22^{c}	4.19±0.30^{a}	7.60±1.04^{a}	2.80±0.26^{a}
	0.5	1.62±0.37^{bc}	3.37±0.53^{ab}	6.00±1.00^{abc}	2.07±0.16^{abc}
	1	3.22±0.90^{a}	3.37±0.29^{ab}	8.55±1.84^{a}	2.32±0.19^{ab}
	2	2.71±0.47^{abc}	3.35±0.44^{ab}	7.85±2.00^{a}	1.95±0.19^{abc}
IAA	0.1	2.11±0.65^{abc}	2.22±0.26^{b}	2.66±0.64^{c}	1.78±0.44^{bc}
	0.5	1.44±0.24^{c}	2.60±0.39^{b}	2.66±0.66^{c}	1.35±0.33^{c}
	1	1.88±0.30^{abc}	2.70±0.26^{b}	3.77±1.05^{bc}	2.24±0.34^{abc}
	2	1.66±0.37^{bc}	2.22±0.34^{b}	3.44±0.60^{c}	1.57±0.23^{bc}

หมายเหตุ *= อักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

ภาพประกอบ 5.6 ผลของฮอร์โมน NAA ต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดยอดใหม่ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

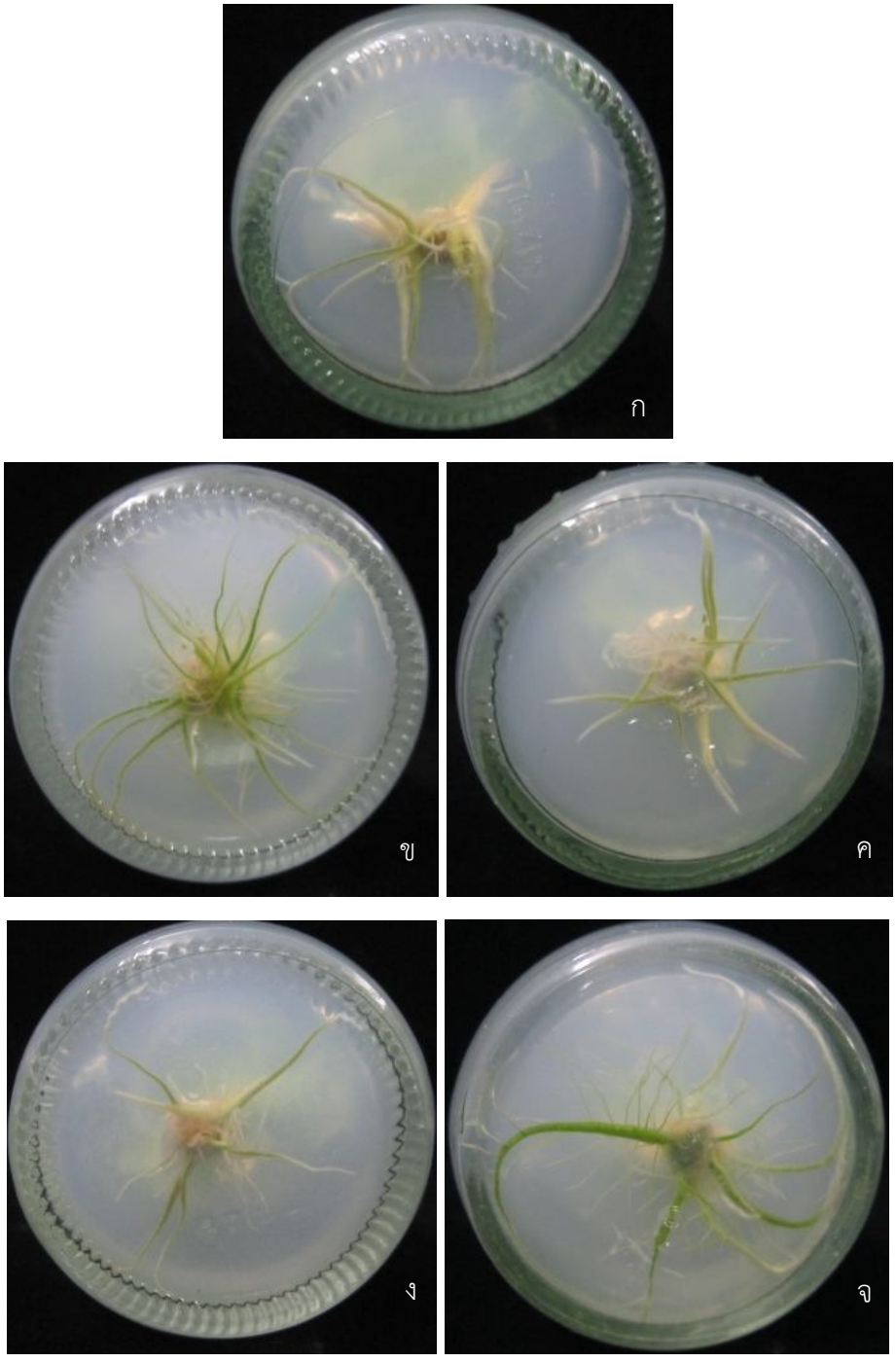
ก. ไม่เติมฮอร์โมน

ข. NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล.

ค. NAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล.

ง. NAA ความเข้มข้น 1 มก./ล.

จ. NAA ความเข้มข้น 2 มก./ล.

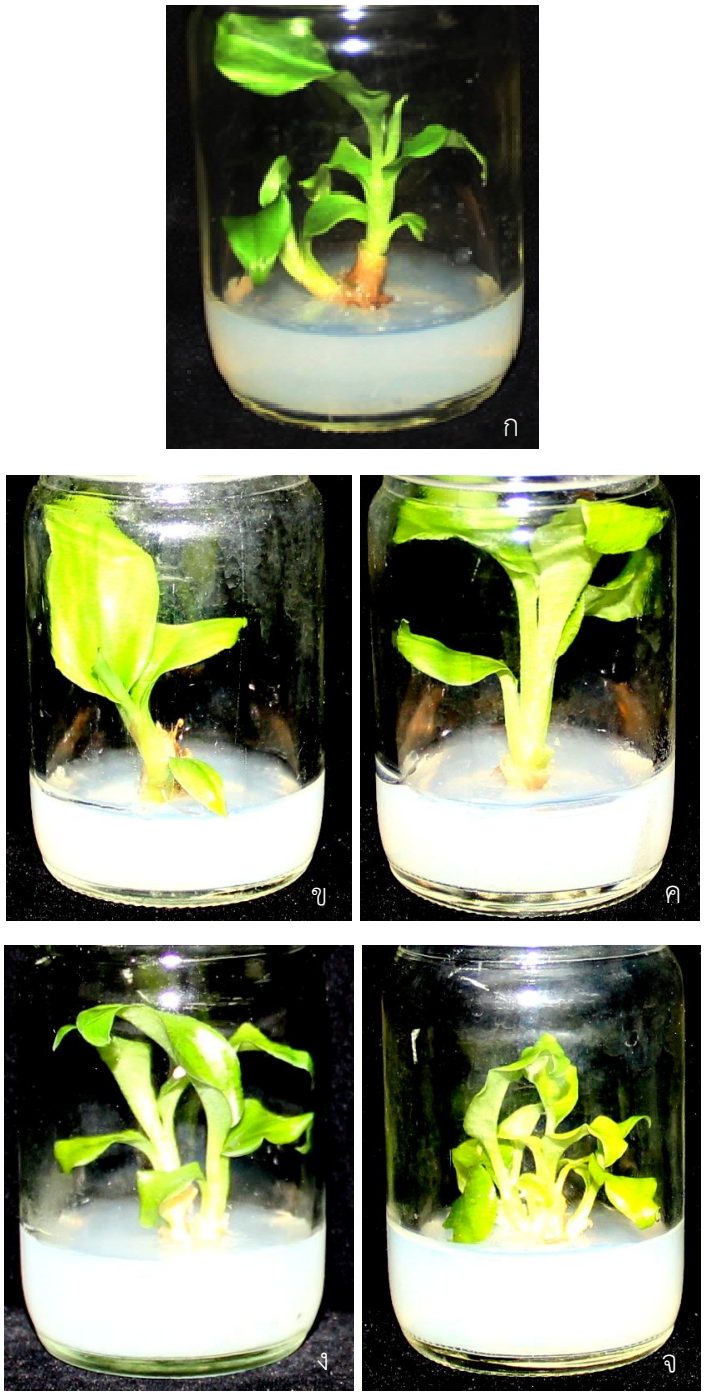


ภาพประกอบ 5.7 ผลของฮอร์โมน NAA ต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดรากใหม่ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ก. ไม่เติมฮอร์โมน

ข. NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. ค. NAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล.

ง. NAA ความเข้มข้น 1 มก./ล. จ. NAA ความเข้มข้น 2 มก./ล.

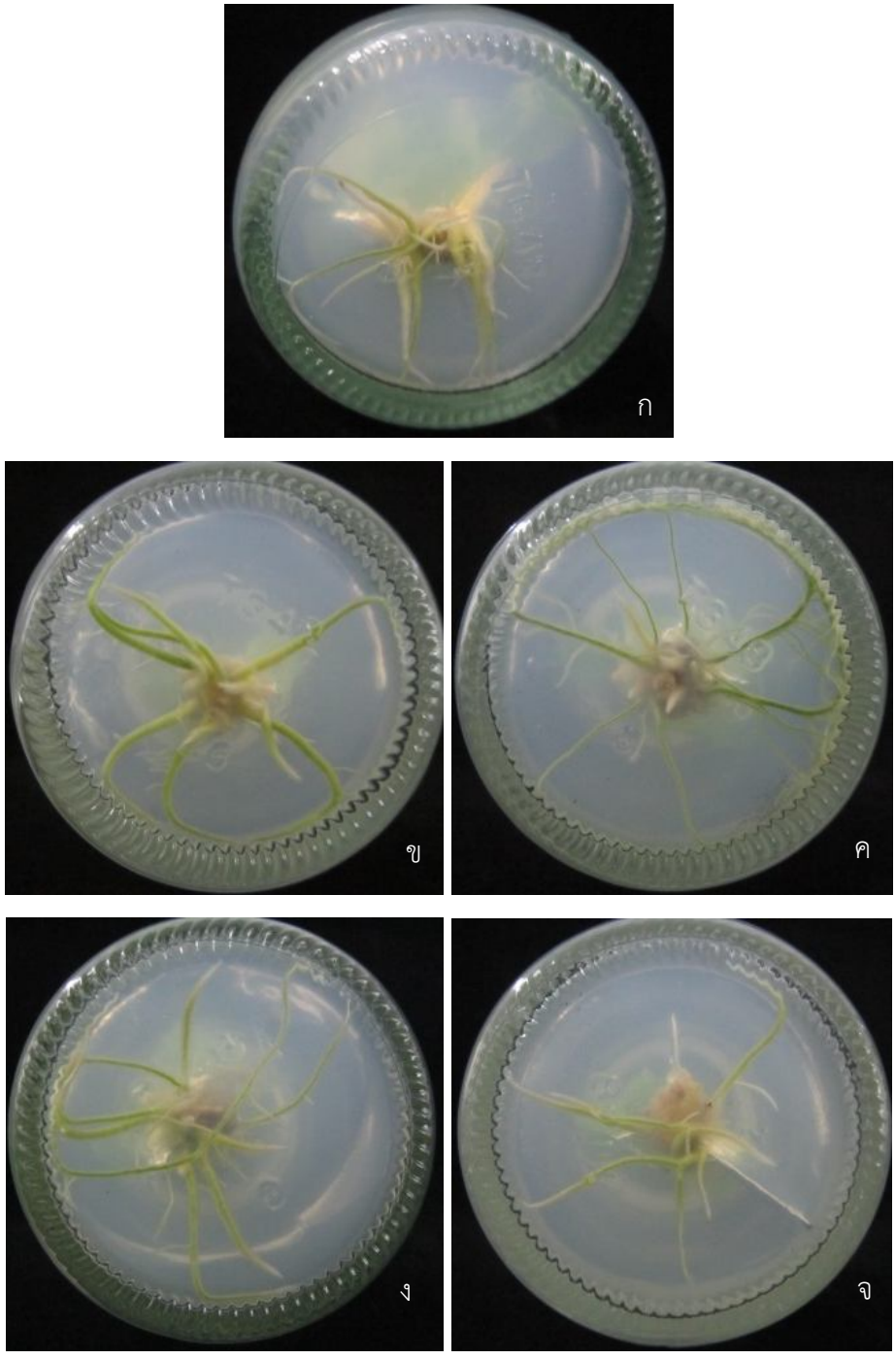


ภาพประกอบ 5.8 ผลของฮอร์โมน IBA ต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดยอดใหม่ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ก. ไม่เติมฮอร์โมน

ข. IBA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. ค. IBA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล.

ง. IBA ความเข้มข้น 1 มก./ล. จ. IBA ความเข้มข้น 2 มก./ล.

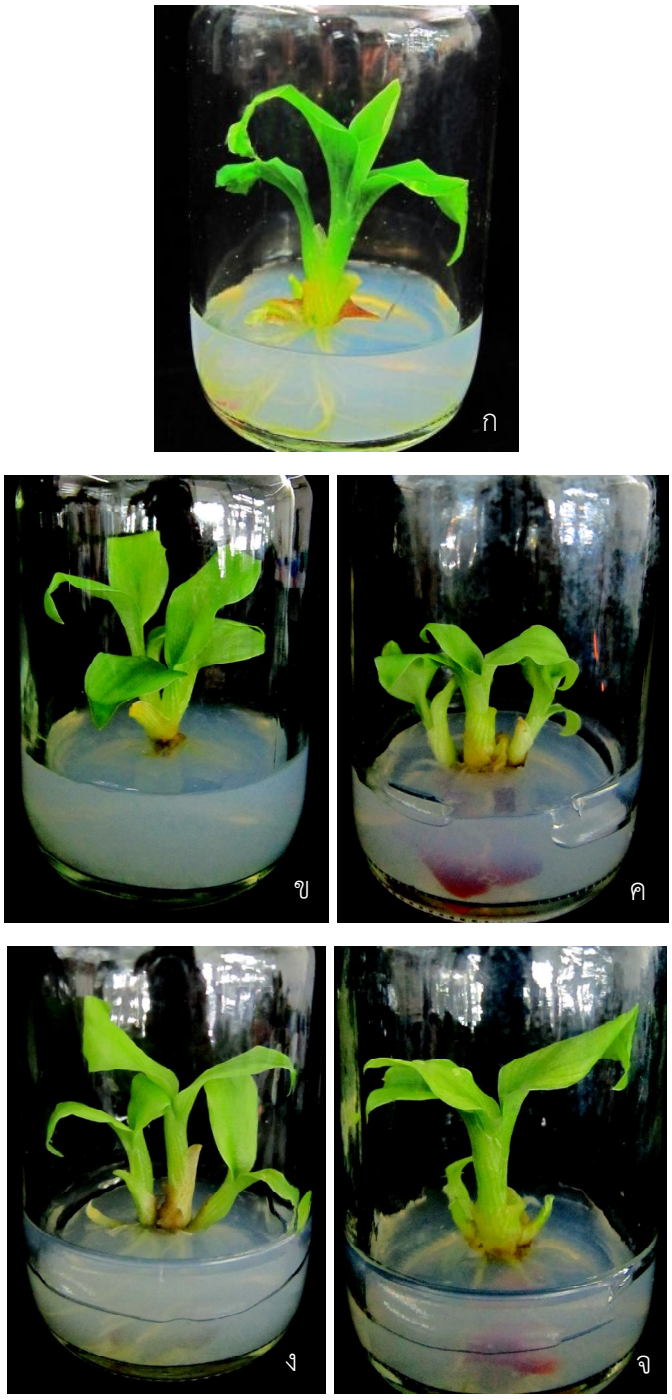


ภาพประกอบ 5.9 ผลของฮอร์โมน IBA ต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดรากใหม่ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ก. ไม่เติมฮอร์โมน

ข. IBA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. ค. IBA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล.

ง. IBA ความเข้มข้น 1 มก./ล. จ. IBA ความเข้มข้น 2 มก./ล.



ภาพประกอบ 5.10 ผลของฮอร์โมน IAA ต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดยอดใหม่ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

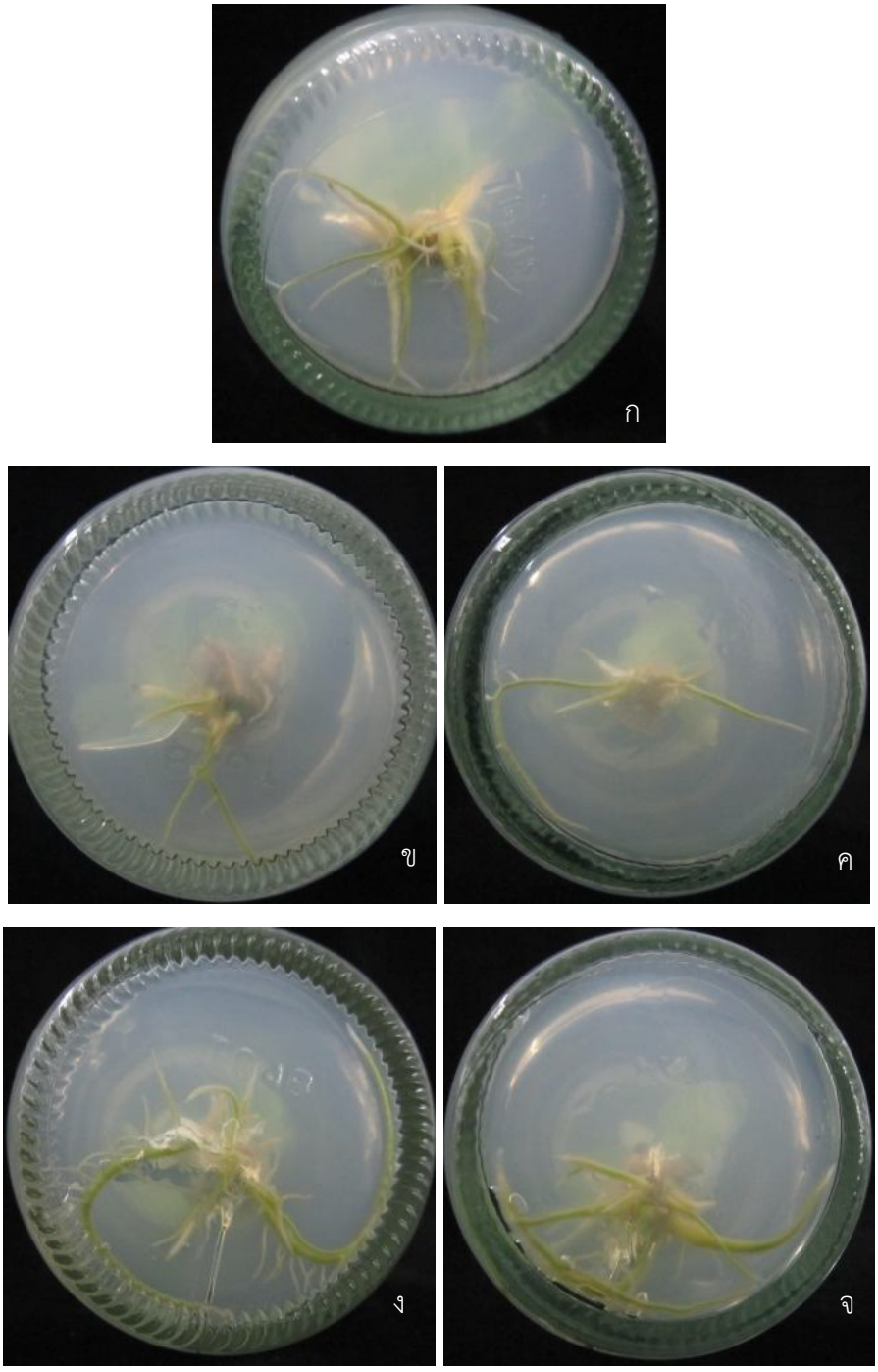
ก. ไม่เติมฮอร์โมน

ข. IAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล.

ค. IAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล.

ง. IAA ความเข้มข้น 1 มก./ล.

จ. IAA ความเข้มข้น 2 มก./ล.



ภาพประกอบ 5.11 ผลของฮอร์โมน IAA ต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดรากใหม่ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ก. ไม่เติมฮอร์โมน

ข. IAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. ค. IAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล.

ง. IAA ความเข้มข้น 1 มก./ล. จ. IAA ความเข้มข้น 2 มก./ล.

5.7 อภิปรายผล

จากการทดลองเพิ่มจำนวนยอดของตูบหมูบ โดยนำต้นอ่อนไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนไซโตไคนิน 3 ชนิด คือ BA, Kinetin และ TDZ ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 มก./ล. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ล. สามารถชักนำต้นอ่อนให้เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุด โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 5.00 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช มีความยาวยอดเฉลี่ย 1.83 ซม. อาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ทุกความเข้มข้น พบว่าชิ้นส่วนมีลักษณะของลำต้นอวบและความยาวยอดเฉลี่ยสั้น เนื่องจาก TDZ มีประสิทธิภาพสูงเมื่อใช้ในความเข้มข้นต่ำ (Mok *et al.* 1987) แต่เมื่อให้ความเข้มข้นสูงจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช จากรายงานการศึกษาผลของฮอร์โมนต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่ใน *Kaempferia galanga* มีการศึกษาดังนี้ Chirangini *et al.* (2005) ตาเหง้าที่นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 4.44 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำตาเหง้าให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด 8.75 ยอดต่อชิ้ส่วนพืช Rahman *et al.* (2005) เพาะเลี้ยงเหง้าบนอาหารครึ่งสูตร MS ที่เติม BA 0.2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.1 มก./ล. ชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุด 8.5 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช Kalpana and Anbazhagan (2009) เพาะเลี้ยงตาเหง้าบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.2 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด 19.40 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช Mohanty *et al.* (2011) นำเหง้ามาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ IAA 0.5 มก./ล. เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุด 10.1 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช Kochuthressia *et al.* (2012) เพาะเลี้ยงส่วนเหง้าบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มก./ล. ร่วมกับ Kinetin 1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด 10.85 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช Sahoo *et al.* (2014) เพาะเลี้ยงตาเหง้าบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มก./ล. ร่วมกับ IAA 0.5 มก./ล. ชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด 11.33 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช Chirangini *et al.* (2005) เพาะเลี้ยงตาเหง้าของ *Kaempferia rotunda* บนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2.22 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA 2.69 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด 6.10 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ผลของฮอร์โมนต่อการชักนำให้เกิดยอดใหม่ในพืชวงศ์ขิง สกุลอื่น พันธิตรา กมล และคณะ (2555) เพาะเลี้ยงต้นอ่อน *Curcuma mangga* บนอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ความเข้มข้น 5 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด 2.73 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช Raihana *et al.* (2011) ใช้ส่วนเหง้าเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BAP 9 มก./ล. เกิดยอดมากที่สุด 3.3 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช Prakash *et al.* (2004) นำเหง้าของ *C. amada* มาเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA 8.88 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA 2.70 ไมโครโมลาร์ เกิดยอดได้ดีที่สุด 7.8 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช Theanphong *et al.* (2010) เพาะเลี้ยงส่วนเหง้าของ *C. aeruginosa* บนอาหารที่เติม BA 1.0 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. ชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด 1.29 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช Zhang *et al.* (2011) ตาเหง้าของ *C. kwangsiensis* เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA 17.8 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA 2.7 ไมโครโมลาร์ และ TDZ 1.4 ไมโครโมลาร์ เกิดยอดได้มากที่สุด 8.2 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช Shahinozzman *et al.* (2013) เพาะเลี้ยงตาข้าง *C. caesia* บนอาหารที่เติม BA 3 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA 0.5 ไมโครโมลาร์ เกิดยอดใหม่ได้มากสุด 10.38 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช ภัทราพร พิมพ์หมื่น และคณะ (2557) นำต้นอ่อน *Globba marantina* เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม TDZ 2 มก./ล. ชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด 7.10 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช จากการทดลองพบว่าต้นอ่อนตูบหมูบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ Kinetin ทุกความเข้มข้น ต้นใหม่ที่เกิดขึ้นมีลักษณะต้นใหญ่และอวบ ใบมีขนาดใหญ่และ

แผ่แบน ขณะที่ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม TDZ ทุกความเข้มข้น ต้นใหม่ที่เกิดขึ้นมีลักษณะต้นเล็กและลำต้นอวบพองออกด้านข้าง ใบมีขนาดเล็กและแผ่แบน ฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนินมีผลกระตุ้นการแบ่งเซลล์ การเจริญของตาข้าง และการเกิดยอดใหม่ จากการทดลองพบว่าอาหารสูตรที่เติมฮอร์โมน TDZ มีแนวโน้มให้จำนวนยอดเฉลี่ยได้ดีที่สุด วราภรณ์ ฉุยฉาย (2552) รายงานว่า TDZ สามารถชักนำให้เกิดยอดได้จำนวนมากกว่า BA ที่ความเข้มข้นเท่ากัน โดยเฉพาะพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เนื่องจาก TDZ เป็นไซโทไคนินในกลุ่ม Phenylureas ซึ่ง TDZ จะถูกทำลายได้ช้าด้วยเอนไซม์ Cytokinin oxidases คือเอนไซม์ที่พืชสร้างขึ้นเพื่อกำจัดไซโทไคนินที่สร้างขึ้นมากเกินไป TDZ ที่ความเข้มข้นต่ำจะมีประสิทธิภาพสูง พันธิตรา กมล และคณะ (2555) รายงานว่า TDZ เมื่อใช้ในความเข้มข้นต่ำมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช ขึ้นอยู่กับปริมาณที่ใช้และชนิดของพืช

จากการทดลองเพิ่มจำนวนรากของตูบหมูบ โดยนำต้นอ่อนมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนออกซิน 3 ชนิด คือ NAA, IBA และ IAA เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 1 มก./ล. สามารถชักนำต้นอ่อนให้เกิดรากมากที่สุด มีจำนวนรากเฉลี่ย 8.55 รากต่อชิ้นส่วนพืช ความยาวรากเฉลี่ย 2.32 ซม. สอดคล้องกับรายงานของ Kalpana and Anbazhagan (2009) ใช้ตาเหง้าของ *Kaempferia galanga* เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA 1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุด 10.40 รากต่อชิ้นส่วนพืช Chithra *et al.* (2005) นำเหง้า *K. galanga* ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA 8.87 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA 2.46 ไมโครโมลาร์ ชักนำให้เกิดรากใหม่ได้ดีที่สุด 6.7 รากต่อชิ้นส่วนพืช Rahman *et al.* (2005) เพาะเลี้ยงเหง้า *K. galanga* บนอาหารครึ่งสูตร MS ที่เติม IBA 0.2 มก./ล. เกิดรากมากที่สุด 12.4 รากต่อชิ้นส่วนพืช Hanumanthraju *et al.* (2010) ตาข้าง *K. galanga* เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2.2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1.07 มก./ล. เกิดรากได้ดีที่สุด 13.10 รากต่อชิ้นส่วนพืช Mohanty *et al.,* (2011) นำส่วนของเหง้า *K. galanga* มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ IAA 0.5 มก./ล. ชักนำให้เกิดรากใหม่ได้ดีที่สุด 5.5 รากต่อชิ้นส่วนพืช เช่นเดียวกับรายงานของ Sahoo *et al.,* (2014) สามารถชักนำเกิดรากใหม่ได้มากที่สุด 6.33 รากต่อชิ้นส่วนพืช จากรายงานการศึกษาผลของฮอร์โมนต่อการชักนำให้เกิดรากใหม่ในพืชวงศ์ขิงสกุลอื่น พันธิตรา กมล และคณะ (2555) ต้นอ่อน *Curcuma magga* ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. สามารถชักนำต้นอ่อนให้เกิดรากได้มากที่สุด 8.2 รากต่อชิ้นส่วนพืช Bejoy *et al.* (2006) ใช้เหง้า *Curcuma haritha* เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA 4.4 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA 5.3 ไมโครโมลาร์ ชักนำให้เกิดเป็นรากได้มากที่สุด 28.0 รากต่อชิ้นส่วนพืช Theanpong *et al.* (2010) เพาะเลี้ยงเหง้าของ *Curcuma aeruginosa* บนอาหารที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. เกิดรากใหม่ได้ดีที่สุด 10 รากต่อชิ้นส่วนพืช Shahinozzaman *et al.* (2013) ใช้ส่วนตาเหง้า *Curcuma caesia* เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม IBA 3 มก./ล. ชักนำตาให้เกิดรากได้ดีที่สุด 9.73 รากต่อชิ้นส่วนพืช จากการทดลองพบว่าต้นอ่อนตูบหมูบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA, IBA และ IAA ลักษณะรากใหม่ที่เกิดขึ้น พบว่าบริเวณโคนรากมีสีเขียวและสีขาว บริเวณปลายรากสีขาว มีขนรากจำนวนน้อย