บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. กลึงกล่อม

1.1 ลักษณะทั่วไป

กลึงกล่อมเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Annonaceae เช่นเดียวกับน้อยหน่าและนมแมว มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Polyalthia suberosa* (Roxb.) Thwaites จากการศึกษาการกระจายพันธุ์พบว่ามีการกระจายพันธุ์อยู่ทั่วไปในเขตภูมิภาคเอเชียทางแถบตอนใต้ของประเทศจีน อินเดีย ศรีลังกา พม่า มาเลเซีย ฟิลิปปินส์และประเทศในแถบอินโดจีน ในประเทศไทยจะพบกลึงกล่อมกระจายอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศแต่จะพบน้อยทางภาคใต้โดยส่วนใหญ่จะพบในบริเวณป่าโปร่ง หรือที่โล่งบริเวณที่มีดินร่วน ระบายน้ำดี ริมคลองหรือที่ราบน้ำท่วมเป็นครั้งคราว คนภาคเหนือนิยมนำยอดอ่อน ใบสด มารับประทานโดยจิ้มกับน้ำพริกและทานเป็นเครื่องเคียงกับลาบหรือยำ ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกลึงกล่อมมีดังนี้ คือ

ลำต้น กลึงกล่อมเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางไม่ผลัดใบ ลำต้นมีความสูงประมาณ 2 - 5 เมตร เรือนยอดเป็นพุ่มกลม เปลือกมีสีน้ำตาลเข้มย่นเป็นสันขรุขระ

ใบ เป็นใบเดี่ยวรูปขอบขนาน แผ่นใบเกลี้ยง โคนใบสอบ ปลายใบแหลม เบี้ยวเล็กน้อย ขอบใบเรียบหรือม้วนงอขึ้น ใบกว้างประมาณ 1.7 - 3.5 เซนติเมตร ยาว 5 - 10 เซนติเมตร เส้นขนานใบ ข้างละ 7 - 8 เส้น ก้านใบยาว 3 - 5 มิลลิเมตร กิ่งมีช่องระบายอากาศเป็นตุ่มสีเทาอมชมพูกระจายทั่วไป

ดอก สีเหลืองอ่อนหรือสีเหลืองนวล กลีบนอกสีน้ำตาลแดง มีกลิ่นหอม ออกเป็นดอกเดี่ยวตามกิ่งหรือตรงข้ามใบใกล้ปลายกิ่ง มีกลีบเลี้ยง 3 กลีบ กลีบดอกเรียงเป็น 2 ชั้น ชั้นละ 3 กลีบ ก้านดอกยาว 1.3 - 3.2 เซนติเมตร ดอกบานเต็มที่กว้าง 1 - 1.6 เซนติเมตร

ผลและเมล็ด ผลจัดเป็นผลกลุ่ม มีเนื้อเมล็ดเดียว ทรงกลม ก้านช่อผลยาว 3 - 5 เซนติเมตร ผลสุกมีสีม่วงดำ ขนาด 5 - 7 มิลลิเมตร ส่วนเมล็ดจะมีสีน้ำตาลเข้มเมื่อแก่จัดขนาดเล็ก ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดได้

การกระจายของกลึงกล่อม กลึงกล่อมมีการกระจายเป็นกลุ่ม ๆ ในบริเวณเขตร้อนเลยไปถึงเขตกึ่งร้อนได้แก่ ทางตอนใต้ของประเทศจีน อินเดีย ศรีลังกา พม่า มาเลเซีย ฟิลิปปินส์และประเทศในแถบอินโดจีน กลึงกล่อมเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง ชอบความชุ่มชื้นดินอุดมสมบูรณ์ ความชื้นในบรรยากาศสูง จึงมักพบในบริเวณป่าโปร่ง หรือที่โล่งบริเวณที่มีดินร่วน ระบายน้ำดี ริมคลองหรือที่ราบน้ำท่วมเป็นครั้งคราว เนื่องจากเป็นที่ที่กลึงกล่อมสามารถเจริญเติบโตได้ดี ในประเทศไทยพบกลึงกล่อมในภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และทางภาคใต้แต่จะพบน้อยกว่าในภาคอื่น ๆ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ การนำเอาส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชไม่ว่าจะเป็นอวัยวะ เนื้อเยื่อ เซลล์ หรือเซลล์ไร้ผนังมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ซึ่งประกอบด้วยแร่ธาตุ น้ำตาล วิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อจุลินทรีย์และควบคุมสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ แสง และความชื้น ชิ้นส่วนของพืชเหล่านี้มีการเจริญเติบโตและพัฒนาได้หลายรูปแบบ เช่น สามารถพัฒนาเป็นแคลลัส (callus formation) แล้วพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ หรือชิ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงพัฒนาเป็นอวัยวะ (organogenesis) จากนั้นจึงพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์หรือมีการพัฒนาเป็นคัพภะก่อนแล้วพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมื่อตัดแบ่งเป็นชิ้นๆแล้วทำการเปลี่ยนอาหารเนื้อเยื่อดังกล่าวยังคงมีความสามารถในการเพิ่มปริมาณได้อย่างไม่มีที่สิ้นสุด สุดท้ายจะได้ต้นที่มีลักษณะเหมือนกันทุกประการเป็นจำนวนมาก (อรดี, 2539; รังสฤษฏ์, 2541)

โดยปกติแล้วเซลล์ เนื้อเยื่อ และอวัยวะต่างๆของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นได้ผ่านกระบวนการเปลี่ยนสภาพเป็นโครงสร้างที่สมบูรณ์และทำหน้าที่เฉพาะอย่างตามที่ถูกกำหนดมาแล้ว การจะชักนำชิ้นส่วนเหล่านี้ให้มีการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานและมีพัฒนาการจนเกิดเป็นพืชต้นใหม่ได้จะต้องผ่านขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงสภาพเพื่อปรับเปลี่ยนสภาวะของเซลล์ 2 ขั้นตอน คือ

1. Dedifferentiation เพื่อเปลี่ยนสถานะของเซลล์ เนื้อเยื่อ หรืออวัยวะต่างๆให้อยู่ในสภาพที่เป็นเซลล์ที่ยังไม่มีการเปลี่ยนสภาพ แต่มีการเติบโตและเพิ่มจำนวนโดยการแบ่งเซลล์แบบ proliferative division ที่อาจอยู่ในรูปของกลุ่มเซลล์หรือแคลลัส หรืออยู่ในรูปของเซลล์เดี่ยวหรือเซลล์แขวนลอย ซึ่งจะเป็นเซลล์ที่ยังไม่ถูกกำหนดให้มีการเปลี่ยนสภาพ (undetermined cell)

2. Redifferentiation เพื่อเปลี่ยนสถานะของกลุ่มเซลล์หรือแคลลัสให้กลับมีการ

กำหนดการเปลี่ยนแปลงสภาพ (determined cell) เพื่อพร้อมเข้าสู่กระบวนการชักนำให้เกิดเป็นต้นใหม่ซึ่งอาจเกิดได้ 2 ทาง คือ

2.1 Embryogenesis การกำเนิดคัพภะจากเซลล์ร่างกายที่เรียกว่า somatic embryo

2.2 Organogenesis การกำเนิดเป็นอวัยวะของส่วนต้น (shoot) หรือราก (root)

การเพาะเลี้ยงจะประสบความสำเร็จขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการที่มีบทบาทควบคุมการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ ได้แก่

1. ปัจจัยภายในพืช (endogenous factors)

1.1 ลักษณะทางพันธุกรรม (genotype) คือ การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อไปเป็นยอดหรือรากนั้นขึ้นกับชนิดของพืช พืชบางชนิดอาจเกิดเป็นยอดหรือรากได้ง่าย ในขณะที่พืชอีกชนิดหนึ่งเกิดได้ยาก แม้จะเลี้ยงในอาหารที่เหมาะสม ซึ่งแสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของพันธุกรรม

1.2 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (phytohormone) ในชิ้นส่วนพืชฮอร์โมนบางชนิดอาจจะช่วยส่งเสริมให้มีการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืช และฮอร์โมนบางชนิดก็สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้เช่นกัน

2. ปัจจัยภายนอก (exogenous factors)

2.1 แสง (light) แสงไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการปรุงอาหารของเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงแต่แสงช่วยให้เนื้อเยื่อมีการพัฒนาไปเป็นส่วนต่างๆของพืชได้ ซึ่งการให้แสงแก่เนื้อเยื่อควรพิจารณาดังนี้ คุณภาพของแสง (light quality) แสงที่มีความสำคัญ คือ แสงสีแดงและสีน้ำเงินในการชักนำให้เกิดยอดจากเนื้อเยื่อพืชและความเข้มของแสง (light intensity) โดยความเข้มแสงที่ระดับต่างๆกันมีผลต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ ระยะเวลาในการให้แสง (light duration) โดยทั่วไปมักจะให้แสงแก่เนื้อเยื่อพืชประมาณ 16 ชั่วโมงต่อวัน

2.2 อุณหภูมิ (temperature) โดยทั่วไปอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อจะประมาณ 25 องศาเซลเซียส

2.3 สารควบคุมการเจริญเติบโต (plant growth regulators) การเกิดเป็นต้นรากหรือแคลลัสของพืชแต่ละชนิดนั้นขึ้นอยู่กับความสมดุลของปริมาณออกซินและไซโตไคนินในอาหาร

3. ปัจจัยอื่นๆ ได้แก่ ชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อพืชที่นำมาเลี้ยง สภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและส่วนประกอบของอาหาร

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant tissue culture) สามารถทำได้โดยนำเซลล์เนื้อเยื่อ หรืออวัยวะส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อเจริญของพืชมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ (synthetic medium) ในสภาพปราศจากเชื้อ (aseptic condition) ภายใต้การควบคุมสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม ได้แก่ อุณหภูมิ แสงสว่าง และความชื้นเป็นต้น โดยทั่วไปการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนิยมเนื้อเยื่อจากต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเม็ดแบบปราศจากเชื้อ (aseptic technique) เพราะทุกชิ้นส่วนของต้นอ่อนสามารถนำมาใช้เป็นเนื้อเยื่อตั้งต้นในการเพาะเลี้ยงส่วนเนื้อเยื่อหรือชิ้นส่วนต่าง ๆ ที่ได้จากพืชต้องนำมาฆ่าเชื้อที่บริเวณผิว (surface sterilization) ก่อนนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สามารถทำได้บนอาหารวุ้นกึ่งแข็ง (agar medium) และในอาหารเหลว (liquid medium) ซึ่งอย่างหลังนิยมทำบนเครื่องเขย่า (shaker) เพื่อเพิ่มออกซิเจนให้แก่เซลล์ หลังจากเลี้ยงเนื้อเยื่อไปได้สักระยะเวลาหนึ่ง ต้องมีการถ่ายเนื้อเยื่อลงอาหารใหม่ (subculturing) เนื่องจากอาหารเดิมลดน้อยลง และของเสียที่เซลล์ขับออกมาเพิ่มมากขึ้น

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชกำเนิดมาจากหลักการ totipotency ที่ว่า เซลล์พืชเดี่ยว ๆ (single cells) ทุกเซลล์มีลักษณะและองค์ประกอบทางพันธุกรรมสมบูรณ์เหมือนต้นแม่ ซึ่งสามารถเจริญและพัฒนาเป็นต้นพืชทั้งต้น (whole plant) ได้ เซลล์พืชเหล่านี้ไม่ว่าจะเป็นเซลล์ที่เจริญเต็มที่ (nature cell) หรือเนื้อเยื่อที่มีการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะอย่าง (differentiated tissue)ได้แก่ เนื้อเยื่อใบ สามารถเจริญและแบ่งตัวเป็น callus หรือพัฒนาเป็นอวัยวะ (organ) เช่น ยอดอ่อน (shoot) และราก (root) ซึ่งสามารถเจริญต่อไปเป็นต้นพืชทั้งต้นได้ ในทางเดียวกัน callus ซึ่งเป็นก้อนของกลุ่ม parenchyma cells ซึ่งยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปทำหน้าที่เฉพาะเจาะจง สามารถเจริญและแบ่งตัวเป็น callus หรือพัฒนาเป็นยอดอ่อน และ ราก ขึ้นกับการกระตุ้นของ plant growth regulator ที่เหมาะสม (ประภัสสร, 2549)

จากหลักการนี้ได้มีการประยุกต์เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชไปใช้ประโยชน์ในทางเกษตรกรรมต่าง ๆ[1] อาทิเช่น (Stafford และ Warren 1991)

-ใช้ในการขยายพันธุ์พืช (micropropagation) โดยเฉพาะพืชที่มีค่าทางเศรษฐกิจ พืชที่มีปัญหาด้านการเพาะปลูกเนื่องจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม และพืชสมุนไพรที่หายาก

-การเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถทำให้พันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง (high yield) เพิ่มความต้านทานหรือเพิ่มความทนทานต่อความแห้งแล้ง จึงนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช (plant breeding)

-ต้นพืชที่พัฒนาจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญในสภาพปราศจากเชื้อ จึงใช้ในการแยกและเลี้ยงพืชปลอดโรคได้ ได้แก่ การกำจัดโรคไวรัสในพืช

-การผสม protoplast (เซลล์พืชที่ถูกย่อย cell wall ออก เหลือแต่ cell membrane บาง ๆ) ของพืชสองชนิดเข้าด้วยกัน ทำให้ได้พืชพันธุ์ใหม่ที่รวมคุณลักษณะดีของพืชสองชนิดไว้ด้วยกัน

-การเก็บรักษาพันธุ์ (germplasm) ไว้ได้เป็นระยะเวลานาน โดยเก็บไว้ในไนโตรเจนเหลวที่อุณหภูมิต่ำ ๆ เมื่อต้องการนำมาใช้ จึงทำการถ่ายเนื้อเยื่อลงสู่อาหารสังเคราะห์

ได้มีผู้การนำเอาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ไปขยายพันธุ์พืชจำนวนมากได้แก่ ยุวดี และคณะ (2527) เลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนต่างๆของหม่อนน้อย เช่น ตาข้าง ตายอด ลำต้นอ่อน ช่อดอก โคนก้านใบ และราก ในอาหาร MS ที่เติมสารเร่งการเจริญเติบโตชนิดต่างๆ พบว่า ตาข้างของหม่อนเหมาะสมที่สุดสำหรับนำมาเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์ โดยเฉพาะตาข้างที่ได้จากกิ่งอายุ 1 เดือนที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่มี 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเกิดต้นพร้อมแคลลัสได้ในเวลา 1 เดือน

อริยา และสาริณี (2532) เลี้ยงใบอ่อนของหม่อน (*Morus alba* var S 54) ที่ได้จากต้นอ่อนที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงและ B_6 เนื้อเยื่อแคลลัสเกิดขึ้นที่บริเวณรอยตัดและเส้นกลางใบของใบอ่อนเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วย้ายยอดไปเลี้ยงบนอาหารสูตรดัดแปลง ที่มีความเข้มข้นสารอาหารเพียงครึ่งเดียว และเติมน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ เพื่อชักนำให้เกิดราก เมื่อต้นอ่อนเหล่านี้สูงประมาณ 2-3 นิ้วจึงย้ายลงปลูกในกระถางที่ใส่ vermiculite จากการทดลองพบว่าเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของต้นหม่อนประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์

ธวัชชัย (2532) ขยายพันธุ์ขนุนในสภาพปลอดเชื้อโดยเลี้ยงกลุ่มขนุนในอาหาร Woody Plant Medium (WPM) ที่มี Gibberellic acid (GA_3) ระดับความเข้มข้น 1.6 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าข้อ,ปล้อง และก้านใบขนุนยืดยาวที่สุด และเมื่อเลี้ยงในอาหาร WPM ที่เพิ่ม 6-benzylaminopurine (BA) ที่ระดับความเข้มข้น 18 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 120 วัน พบว่าเนื้อเยื่อส่วนปลายยอดนั้นเกิดยอดจำนวนมากที่สุด

รังสิมา (2536) ได้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดยอดและคุณภาพของปอสาไทย ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยเลี้ยงยอดบนอาหารแข็งสูตร T17 ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร IBA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ riboflavin ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าได้ต้นปกติถึง 90 เปอร์เซ็นต์และยังพบว่าการใช้ KIN ความเข้มข้น 1-2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร สลับกับ BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นบางครั้ง จะช่วยเพิ่มความยาวของยอดที่มีขนาดเล็กโดยที่ riboflavin มีแนวโน้มทำให้สีของใบดีขึ้น ส่วนปริมาณวุ้นที่เพิ่มขึ้นจาก 8 กรัมต่อลิตรเป็น 12 กรัมต่อลิตร มีผลทำให้การฉ่ำน้ำลดลง แต่ก็จะไปทำให้ปริมาณต้นลดลงจาก 5.2 ต้นเป็น 3.5 ต้นต่อชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยง การเพิ่มความเข้มข้นของ BAP ถึงแม้ได้จำนวนยอดที่เพิ่มขึ้น แต่ก็จะเพิ่มการฉ่ำน้ำเช่นกัน การใช้ BAP ร่วมกับ IBA มีผลทำให้เกิดความเสียหายของใบหรือยอดมากกว่าการใช้ KIN ร่วมกับ IBA ซึ่งการใช้ KIN ร่วมกับ IBA ไปมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การหลุดร่วงของใบเกิดมากขึ้น แม้ KIN ไม่เพิ่มปริมาณต้น แต่จะมีผลทำให้ต้นยืดยาวขึ้น และเกิดรากดีขึ้น ในการศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยาโครงสร้างของใบปอสาจะดีที่สุดเมื่อมีการใช้ BAP ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่เมื่อเพิ่ม BAP หรือ KIN ปริมาณของช่องว่างระหว่างเซลล์เกิดขึ้นมาก และการเรียงตัวของเซลล์จะไม่เป็นระเบียบยิ่งขึ้น

สรสิช และคณะ (2547) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านสี่ทิศพันธุ์ Hippeastrum johnsonii โดยใช้ส่วนกลีบหัวเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog , 1962) ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต คือ NAA กับ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 7 สัปดาห์ พบว่าทุกสัดส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโตมีการเกิดต้นและในบางสัดส่วนไม่มีการเกิดรากและ ในบางสัดส่วนมีการชักนำให้เกิดแคลลัส สัดส่วนที่มีการชักนำเป็นต้นได้ดีคือในอาหารที่มี NAA 0.5 mg/l ร่วมกับ BA 2.0 mg/l , NAA 0.05 mg/l ร่วมกับ BA 1.5 mg/l , NAA 0.05 mg/l ร่วมกับ BA 1.0 mg/l ตามลำดับ สำหรับการชักนำการเกิดรากได้ดีในอาหาร ที่มี NAA 0.05 mg/l ร่วมกับ BA 1.5 mg/l , NAA 0.1

mg/l ร่วมกับ BA 1.0 mg/l ตามลำดับและสำหรับการชักนำการเกิดแคลลัสได้ดีในอาหาร ที่มี NAA 0.5 mg/l ร่วมกับ BA 0.5 mg/l

ปราโมทย์ (2539) เลี้ยงตาข้างของชมพู่น้ำดอกไม้ โดยใช้อาหารสูตร Woody Plant Medium (WPM) ที่มี BA ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0-10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ระดับ 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด 4.3 และ3.8 ยอดตามลำดับ และชักนำให้เกิดรากโดยเลี้ยงบนอาหารที่เติม NAA 0.1-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ต้นที่สมบูรณ์และออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกมีชีวิตรอด 100 เปอร์เซ็นต์

ปัทมา (2539) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตะไคร้หอมโดยนำส่วนปลายยอดตะไคร้หอมฟอกฆ่า เชื้อที่ผิวด้วยคลอรอกซ์ ความเข้มข้น 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ โดยผันแปรช่วงเวลาการแช่ 10, 15 และ 20 นาที ตามลำดับ พบว่าไม่เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เมื่อใช้คลอรอกซ์ความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ ฟอกนาน 20 นาที การนำปลายยอดและข้อของตะไคร้หอมเลี้ยงบนอาหารสูตร MS(1962) เติมที่ BAP หรือ kinetin ความเข้มข้น 0, 1, 2, 4 และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงนาน 30 วัน พบว่าปลายยอดและข้อที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) โดยเติม BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มจำนวนยอดมากที่สุด คือ 6.8 และ 4.1 ยอดต่อหน่อตามลำดับ เมื่อตัดแยกหน่อเดี่ยวที่ได้ย้ายลงเลี้ยงต่อในอาหารสูตรเดิมเลี้ยงนาน 2 สัปดาห์ พบว่าได้หน่อจำนวนมากที่สุด 5.7 ยอดต่อหน่อ เมื่อลดความเข้มข้น BAP เป็น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร การกระตุ้นให้แต่ละหน่อเกิดรากโดยนำหน่อที่ได้เลี้ยงในอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม NAA หรือ IBA หรือ IAA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 30 วัน พบว่า IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร กระตุ้นให้เกิดรากได้ดีที่สุดคือ 3 รากต่อหน่อ การย้ายต้นตะไคร้หอมปลูกในดินผสมหรือโพลิเมอร์ในสภาพเรือนทดลองโดยรดด้วยน้ำ หรือสารละลาย Hoagland เป็นเวลา 30 วันพบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตไม่แตกต่างกัน แต่ที่ปลูกในดินผสมรดด้วยสารละลาย Hoagland มีการเจริญเติบโตด้านความยาวมากกว่าคือสูงถึง 45.35 ซม. เมื่อนำช่อดอกอ่อนไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS (1962) หรือ N6 (1978) ที่เติม 2,4-D หรือ dicamba ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงนาน 30 วัน พบว่าอาหารสูตร MS (1962) สามารถชักนำให้ช่อดอกอ่อนสร้างแคลลัสได้ปริมาณมากกว่าอาหารสูตร N6 (1978) และ 2,4-D ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ได้แคลลัสที่มีลักษณะดีกว่า dicamba เมื่อย้ายแคลลัสไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0, 0.1, และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 30 วัน พบว่า BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

เหมาะสมต่อ การกระตุ้นให้แคลลัสเพิ่มปริมาณและแคลลัสที่ได้สามารถเจริญและพัฒนาไปเป็นต้นที่มีรากสมบูรณ์

สุพิณญา (2540) นำส่วนตาข้างมะตูมที่ปลอดเชื้อมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดมากที่สุดเฉลี่ย 7.8 ยอดต่อตา ความสูงยอดเฉลี่ย 1.2 เซนติเมตร ในเวลา 60 วัน นำยอดที่เกิดขึ้นมาชักนำให้เกิดรากโดยเลี้ยงบนอาหารสูตรครึ่ง MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า IBA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้ยอดมะตูมเกิดรากได้มากที่สุด

วิภารัตน์ (2540) นำเนื้อเยื่อส่วนตาข้างของปอสา มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0, 0.01, 0.05 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก พบว่ายอดที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิดยอดที่สมบูรณ์จำนวนมาก

ยุพาและคณะ (2542) นำเนื้อเยื่อส่วนตาข้างปอสาไทย (*Broussonetia papyrifera)*มาเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม BAP ร่วมกับ NAA เพื่อชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก พบว่าบนสูตรอาหาร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมที่สุดในการชักนำให้เกิดยอดที่สมบูรณ์จำนวนมากคือระยะ 30 วันแรกสามารถเพิ่มจำนวนยอดเฉลี่ย 6.33 ยอดและภายหลังการเปลี่ยนถ่ายอาหารอีก 30 วัน สามารถเพิ่มยอดได้อีก 6.75 ยอด ส่วนการชักนำให้ยอดที่ได้จากสภาพปลอดเชื้อเกิดราก พบว่ายอดที่เลี้ยงบนอาหารสูตร ครึ่ง MS ในสภาพมืด 10 วันก่อนนำไปเลี้ยงในสภาพปกติ มีการเกิดรากสูงสุดคือ 37.50 เปอร์เซ็นต์ ในปี พ.ศ. 2543 ยุพา และคณะ ได้รวบรวมพันธุ์ปอสาจากแหล่งธรรมชาติได้แก่ พื้นที่จังหวัดน่าน แพร่ สุโขทัย เลย อุดรธานี กาญจนบุรีและราชบุรี รวมทั้งปอสาพันธุ์ญี่ปุ่นพบว่า ปอสาพันธุ์ญี่ปุ่น มีอัตราการรอดตายและเปอร์เซ็นต์การออกรากสูงที่สุด สำหรับปอสาไทยโคลนที่มีอัตราการรอดตาย และเปอร์เซ็นต์การออกรากอยู่ในเกณฑ์ดี ได้แก่ ปอสารหัส WC จากอำเภอวังชิ้น จ.สุโขทัย รหัส SS จากอำเภอศรีสัชนาลัย จ.สุโขทัย รหัส UN จากอำเภอน้ำโสม จ.อุดรธานี รหัส MC จากอำเภอแม่จริม จ.น่าน รหัส SP จากอำเภอสวนผึ้ง จังหวัดราชบุรี ตามลำดับและได้คัดเลือกโคลนปอสาเพื่อเป็นตัวแทนในภูมิภาคต่าง ๆ ได้แก่ภาคเหนือตอนบนใช้ปอสารหัส MC ภาคเหนือตอนล่างใช้ปอ

สารหัส SS ภาคตะวันออกเฉียงเหนือใช้ปอสารหัส UN ภาคตะวันตกใช้ปอสารหัส SP เป็นตัวแทน และได้ทำการขยายพันธุ์ปอสาโดยวิธีตัดยอดปักชำโดยนำต้นกล้าปอสาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลูกในสภาพธรรมชาติอายุ 6 เดือนแล้วทำการตัดส่วนยอดให้เหลือลำต้นสูงจากพื้นดินประมาณ 15 เซนติเมตร นำส่วนยอดไปปลูกใน ดิน : ทราย : ขี้เถ้าแกลบ ; ขุยมะพร้าว เท่ากับ 1:1:1:1 โดยนำส่วนโคนจุ่มในสารเร่งรากเซอราดิกซ์เบอร์ 3 พบว่าได้ผลรวดเร็วเพียง 2 สัปดาห์ยอดปักชำก็เกิดรากพร้อมที่จะย้ายลงถุงเพาะชำ

นันทนา (2551) ขยายพันธุ์ยอโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ดยนำตาข้างยอมาฟอกฆ่าเชื้อและชักนำให้เกิดยอดในอาหารสูตร MS (Murashige และ Skoog, 1962) ที่มี BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นนำยอดที่ได้ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP เพียงอย่างเดียว และ BAP ร่วมกับ kinetin เป็นเวลา 98 วัน พบว่าปลายยอดที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม BAP ร่วมกับ kinetin ในปริมาณเท่ากันที่ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดยอเฉลี่ยสูงสุด 5.00 ยอด มีการเกิดแคลลัสบริเวณรอยตัดด้านล่าง แคลลัสบางกลุ่มเปลี่ยนเป็นกลุ่มยอด ยอดที่ได้จากการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก สามารถเกิดรากได้ดีบนอาหารสูตร MS ที่ไม่ต้องเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เมื่อนำต้นกล้าออกปลูกสามารถตั้งตัวและมีอัตราการรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์

Oka และ Ohyama (1989) รายงานการเกิดแคลลัสจากส่วนต้นอ่อนของ ปอสาญี่ปุ่น (*Broussonetia kazinoki*) บนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4 D-1 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลานาน 3 เดือนในสภาพมืดที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส จากนั้นสามารถเพิ่มปริมาณแคลลัสได้บนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และเริ่มสังเกตเห็นตาขนาดเล็ก หลังจากเปลี่ยนถ่ายอาหารที่มี BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ครั้งที่ 4 และสามารถชักนำให้ยอดจากแคลลัสเกิดรากได้บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และได้ชักนำให้เกิดยอดและราก จากส่วน hypocotyls โดยพบว่าเมื่อเลี้ยง hypocotyls บนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 0.1-1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะสังเกตเห็นตาขนาดเล็กได้ภายใน 3 สัปดาห์ และตาจะเจริญเป็นยอดอย่างรวดเร็วภายใน 5 สัปดาห์ จะได้ยอดที่มีความยาวประมาณ 5 เซนติเมตร และสามารถชักนำให้ยอดเหล่านี้เกิดรากได้บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

Yong และ Gyong (1991) รายงานชักนำให้เกิดต้น จากส่วนของเนื้อเยื่อเจริญของหม่อน (*Morus* sp.) โดยพบว่าเนื้อเยื่อเจริญ สามารถเกิดยอดและรากได้ดีเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม

BAP 0.5-1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.01-0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้บนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 2-3 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพมืด

Amin (1992) รายงานการชักนำให้เกิดยอดจากตาข้างของขนุน โดยเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0.5-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 90 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารสูตรครึ่ง MS ที่เติม IBA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

นอกจากนี้ได้มีการนำเอาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ไปใช้ประโยชน์หลายด้านได้แก่ การปรับปรุงพันธุ์และขยายพันธุ์พืชพืชให้มีความสามารถในการเจริญเติบโตในดินเค็ม ซึ่งจะช่วยให้เกษตรกรสามารถปลูกพืชได้ในพื้นที่ดินเค็มได้ การปรับปรุงพันธุ์พืชชนิดต่างๆ ให้ทนเค็มจึงเป็นงานวิจัยที่มีผู้ทำการทดลองกันอย่างกว้างขวาง ได้แก่ การคัดเลือกสายพันธุ์อ้อยทนเค็ม (Liu and Yeh, 1982) การคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวทนเค็ม (Yano *et al.*, 1982) การคัดเลือกในหญ้าโร้ดส์ (Taleisnik *et al.*, 1997) หรือหญ้าแฝก (ศิริลักษณ์, 2540) นอกจากการคัดเลือกเพียงอย่างเดียว การใช้รังสีในการชักนำให้เกิดการกลายในพืชแล้วจึงคัดเลือกพืชที่ต้านทานต่อความเค็ม จัดว่าเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงและนิยมใช้มากในพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจได้แก่ หญ้าแฝก (วราพร, 2543) หญ้าเนเปียร์แคระ (จันทกานต์, 2544) กล้วยไข่พระตะบอง (Sahavacharin *et al.,* 1987) เป็นต้น