# การพัฒนาวิธีการขยายพันธุ์ฮาโวเทียที่รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพในสภาพหลอดทดลอง

**ศิรศาธิญากร บรรหาร* และสุพิชญา แก้วกล่ำ**

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี 20131

*E-mail: siripan@go.buu.ac.th

**รับบทความ: 2 มิถุนายน 2563 แก้ไขบทความ: 12 ตุลาคม 2563 ยอมรับตีพิมพ์: 26 ตุลาคม 2563**

**บทคัดย่อ**

การศึกษาครั้งนี้ต้องการพัฒนาวิธีที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพในการขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณของฮาโวเทีย (*Haworthia turgida* Haw.) ในหลอดทดลอง โดยศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตและวิตามินบีรวม (B–complex) ที่มีต่อการขยายพันธุ์ของฮาโวเทีย เริ่มจากการนำชิ้นส่วนใบขนาด 0.5 ตารางเซนติเมตร ที่ได้จากต้นกล้าปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 1 และ 2 mg/L ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0 1 และ 2 mg/L เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนใบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 และ 2 mg/L ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0 1 และ 2 mg/L มีร้อยละการเกิดแคลลัสเท่ากับ 100 และจะเห็นได้ว่าการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 mg/L ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 2 mg/L สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและน้ำหนักสดแคลลัสมากที่สุด จากนั้นนำชิ้นส่วนแคลลัสขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.0 เซนติเมตร มาเพิ่มปริมาณแคลลัสและชักนำให้เกิดยอด โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 mg/L ร่วมกับวิตามินบีรวมความเข้มข้น 0 1 2 3 4 และ 5 mg/L เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 mg/L ร่วมกับวิตามินบีรวมความเข้มข้น 3 mg/L มีผลทำให้แคลลัสมีน้ำหนักสดมากที่สุด ในขณะที่อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (ชุดควบคุม) สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดี จากนั้นนำยอดที่มีความยาว 1.5±0.3 เซนติเมตร มาชักนำให้เกิดราก โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ IBA ที่ความเข้มข้น 0 0.2 0.4 และ 0.6 mg/L เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดี และมีความยาวรากมากที่สุด และจากการย้ายปลูกชิ้นส่วนยอดในพีทมอสที่คลุกกับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0 0.2 0.4 และ 0.6 mg/L เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ มีร้อยละการรอดชีวิตเท่ากับ 100 ทุกชุดการทดลองและต้นกล้าที่ปลูกในพีทมอสที่คลุกกับอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.4 mg/L รวมไปถึง NAA ความเข้มข้น 0.2 และ 0.4 mg/L มีจำนวนรากมากที่สุด

**คำสำคัญ:** ฮาโวเทีย ในสภาพหลอดทดลอง สารควบคุมการเจริญเติบโต วิตามินบีรวม แคลลัส

# Development of a Rapid and Efficient Method for *In Vitro* Propagation in *Haworthia turgida* Haw.

**Sirasatiyakorn Banharn*** **and Supichaya Kaewklam**

Department of Biology, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131, Thailand

*E-mail: siripan@go.buu.ac.th

**Received: 2 June 2020 Revised: 12 October 2020 Accepted: 26 October 2020**

**Abstract**

The aim of this study was to develop a rapid and efficient method for *in vitro* propagation and multiplication in *Haworthia turgida* Haw. The effect of plant growth regulators and vitamin B–complex on propagation of *Haworthia* was carried out by culturing 0.5 $cm^2$ leaf explants on MS medium supplemented with 0, 1 and 2 mg/L NAA and 0, 1, and 2 mg/L TDZ for callus proliferation. After culturing for 5 weeks, it was found that leaf explants cultured on MS medium supplemented with 1 and 2 mg/L NAA and 0, 1 and 2 mg/L TDZ had the greatest callus induction percentage (100%), and leaf explants cultured on MS medium supplemented with 1 mg/L NAA and 2 mg/L TDZ had the maximum diameter and weight of callus. After that, callus with 1 cm in diameter was selected for a proliferation and shoot induction by adding callus to MS medium supplemented with 1 mg/L BA and vitamin 0, 1, 2, 3, 4 and 5 mg/L B–complex. After culturing for 10 weeks of this process, the results showed that MS medium supplemented with 1 mg/L BA and 3 mg/L vitamin B–complex gave the best callus weight, and MS medium without plant growth regulators (control) gave the highest shoot induction. Later, new shoots with length of 1.5±0.3 cm were used for root induction by culturing on MS medium supplemented with NAA and IBA at concentrations of 0, 0.2, 0.4 and 0.6 mg/L for 4 weeks. The results revealed that MS medium (control) was more effective in root formation with the highest root number and root length. Finally, the regenerated plantlets from the explants with healthy shoot system were transferred into pots containing peat moss supplemented with NAA and IBA at concentrations of 0, 0.2, 0.4 and 0.6 mg/L for 8 weeks. It demonstrated that all these shoot explants showed 100% survival, whereas the plantlets on peat moss supplemented with MS medium with 0.4 mg/L IBA and 0.2, 0.4 mg/L NAA had the highest root number.

**Keywords:** *Haworthia*, *In vitro*, Plant growth regulators, B–complex, Callus

**บทนำ**

ฮาโวเทีย (*Haworthia*) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Haworthia turgida* Haw. จัดอยู่ในวงศ์ Liliaceae เป็นไม้อวบน้ำที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง จัดอยู่ในกลุ่มไม้ดอกไม้ประดับ มีถิ่นกำเนิดอยู่ทางตอนใต้ของทวีปแอฟริกา มีปลูกทั่วไปในแถบทวีปเอเชีย ยุโรป และอเมริกา ต้นมีขนาดเล็กกะทัดรัด ใบมีสีเขียวเข้ม ส่วนประกอบภายในใบใช้เก็บสะสมน้ำและอาหาร รากอวบน้ำ ด้วยขนาดต้นที่เล็กกะทัดรัด ใบสวย มีการดูแลที่ง่าย และสามารถปรับตัวทนต่อสภาพแวดล้อมได้ ปัจจุบันจึงนิยมนำมาประดับตกแต่งและจัดเป็นสวนขนาดเล็กร่วมกับไม้อื่น ๆ (Khamsing, 2017) ฮาโวเทียเป็นไม้ประดับที่มีราคาค่อนข้างสูงเพราะส่วนใหญ่นำเข้าจากต่างประเทศ เช่น ประเทศญี่ปุ่น จนเริ่มมีการพัฒนาลูกผสม มีลักษณะสายพันธุ์ที่ดี แข็งแรง สีสันสวยงาม ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นความหลากหลายของฮาโวเทีย ทำให้ฮาโวเทียเป็นที่รู้จักในวงการไม้ดอกไม้ประดับ และได้รับความนิยมอย่างต่อเนื่อง การเพาะขยายพันธุ์ฮาโวเทียสามารถทำได้ 4 วิธี คือ การเพาะเมล็ด การปาดยอด การปักชำใบ และการแยกหน่อซึ่งเป็นวิธีที่ดีได้รับความนิยมมากที่สุด สำหรับวัสดุปลูกฮาโวเทียที่ได้รับความนิยมได้แก่ พีทมอส ขุยมะพร้าว แกลบดิบ แกลบเผา หินภูเขาไฟ ซึ่งวัสดุปลูกที่ดีควรมีคุณสมบัติโปร่งระบายน้ำและอากาศได้ดี จะทำให้รากเดินดี และวัสดุปลูกควรผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อก่อนนำมาปลูกเพื่อกำจัดวัชพืชต่าง ๆ ฮาโวเทียเจริญเติบโตได้ดีเมื่อปลูกลงในกระถางดินเผา ทำให้รากดก และมีการยึดติดกับกระถางได้ดีกว่ากระถางพลาสติกธรรมดา (Paeng–ngam, 2017) ปัจจุบันฮาโวเทียมักประสบปัญหาเกี่ยวกับโรคต่าง ๆ เช่น โรคโคนเน่า ใบเน่า การเกิดเชื้อราจากความชื้นมากเกินไปและการที่ใบเหี่ยวจากการโดนแดดมากเกินไป ทำให้เกิดความเสียหายต่อการปลูกฮาโวเทียเป็นอย่างมากและวิธีการขยายพันธุ์แบบที่กล่าวไปข้างต้นใช้เวลานานกว่าจะเจริญเติบโตเต็มที่ อีกทั้งยังไม่ได้ลักษณะตามที่ต้องการ จึงได้มีการนำเอาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้เพื่อเพิ่มจำนวนต้นกล้าให้ได้ปริมาณมากและลดระยะเวลาในการขยายพันธุ์ อีกทั้งจากการสืบค้นข้อมูลวิจัยพบว่าในประเทศไทยยังมีรายงานที่ศึกษาเกี่ยวกับการขยายพันธุ์และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของฮาโวเทียค่อนข้างน้อยหรือแทบไม่มีเลย จากเหตุผลดังกล่าวทำให้ผู้วิจัยสนใจศึกษาการเพาะเลี้ยงฮาโวเทียโดยนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้ามาร่วมด้วยเพื่อศึกษาหาวิธีขยายพันธุ์ต้นฮาโวเทียที่มีประสิทธิภาพมากขึ้นและทำให้ได้ต้นในปริมาณมากขึ้น สามารถนำเทคนิคที่ได้ไปเพิ่มปริมาณฮาโวเทียให้ได้จำนวนมากและรวดเร็ว ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการเพาะเลี้ยงฮาโวเทียซึ่งเป็นพืชที่ใช้ประดับสวนและการจัดสวนที่ต้องใช้ต้นปริมาณมาก รวมถึงพืชอวบน้ำในกลุ่มเดียวกันอีกด้วย

**วิธีดำเนินการวิจัย**

*การเพาะเลี้ยงส่วนใบเพื่อผลิตต้นกล้าปลอดเชื้อ*

เลือกใบที่สมบูรณ์ของของ *H. turgida* Haw. ที่ซื้อจากร้านขายต้นไม้ในจังหวัดชลบุรี มาล้างด้วยน้ำสบู่เพื่อกำจัดฝุ่น ละอองหรือเศษซากแมลงที่อาจติดมากับใบและต้น จากนั้นนำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอรอกซ์ความเข้มข้นร้อยละ 5 เป็นเวลา 10 นาที โดยวางบนเครื่องเขย่า นำไปล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที และนำชิ้นส่วนใบวางลงบนจานแก้ว ตัดให้มี

ขนาด 0.5×0.5 ตารางเซนติเมตร จากนั้นนำไปวางเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม TDZ ปริมาณ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ ให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ จะเห็นได้ว่ามีการสร้างแคลลัสเกิดขึ้น แล้วนำแคลลัสที่ได้ย้ายลงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ จะเห็นได้ว่ามีการสร้างยอดละรากเกิดขึ้น

*ผลของ NAA และ TDZ ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบ*

ตัดชิ้นเนื้อเยื่อใบของฮาโวเทียตามขวางให้มีขนาด 0.5×0.5 เซนติเมตร นำมาวางบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม NAA 0 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 0 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีทั้งหมด 9 ชุดการทดลอง ๆ ละ 5 ซ้ำ เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 16 ลักซ์ โดยให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ บันทึกร้อยละการเกิดของแคลลัส ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัส และน้ำหนักสดของแคลลัส

*ผลของ BA และวิตามินบีรวม (B–complex) ต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัสและการชักนำให้เกิดยอด*

นำชิ้นส่วนแคลลัสขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.0 เซนติเมตร ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับวิตามินบีรวม ความเข้มข้น 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีทั้งหมด 7 ชุดการทดลอง การทดลองละ 10 ซ้ำ เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ ให้แสงสว่างเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 10 สัปดาห์ บันทึกร้อยละการเกิดของแคลลัส น้ำหนักสดแคลลัส และจำนวนยอดที่เกิดขึ้น

*ผลของ NAA และ IBA ต่อการชักนำให้เกิดรากจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอด*

นำชิ้นส่วนยอดความยาวประมาณ 1.5± 0.3 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 1–Naphthaleneacetic acid (NAA) ความเข้มข้น 0 0.2 0.4 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 3–Indolebutyric acid (IBA) ที่ความเข้มข้น 0 0.2 0.4 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร รวมทั้งหมด 16 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ10 ซ้ำ เพาะเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ โดยให้ได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกจำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนใบ ความยาวใบ จำนวนราก และความยาวรากเฉลี่ย

*ผลของชนิดวัสดุปลูกและวิธีการย้ายปลูกที่เหมาะสมต่อร้อยละการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของต้นกล้า*

นำชิ้นส่วนยอดความยาวประมาณ 1.5± 0.3 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงลงในขวดบรรจุพีทมอสคลุกกับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0 0.2 0.4 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ที่ระดับความเข้มข้น 0 0.2 0.4 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร รวมทั้งหมด 7 ชุดการทดลอง นำไปวางในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อควบคุมอุณหภูมิที่ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ โดยให้ได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกร้อยละการรอดชีวิต และการเจริญเติบโตของต้นกล้า คือ น้ำหนักสด จำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนใบ ความยาวใบ จำนวนราก และความยาวรากของต้นกล้า

**การวิเคราะห์ผล**

วิเคราะห์ผลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (one–way analysis of variance: ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของชุดการทดลองแต่ละชุด ด้วยวิธี Tukey's studentized range test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Minitab version 17 ที่ *p*–value = 0.05

**ผลการวิจัย**

*ผลของ NAA และ TDZ ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบ*

จากการนำชิ้นส่วนใบฮาโวเทียที่มีขนาด 0.5×0.5 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ ทุกความเข้มข้น สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ทั้งหมด (ร้อยละ 100) ยกเว้นในอาหารสูตรที่เติม TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (MS-free hormone) ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ และจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้แคลลัสมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของแคลลัสมากที่สุดเท่ากับ 2.20± 0.17 เซนติเมตร รวมถึงมีน้ำหนักสดของแคลลัสมากที่สุดเท่ากับ 1.00±0.34 กรัม ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดการทดลองอื่น ๆ (ตาราง 1 และภาพที่ 1)

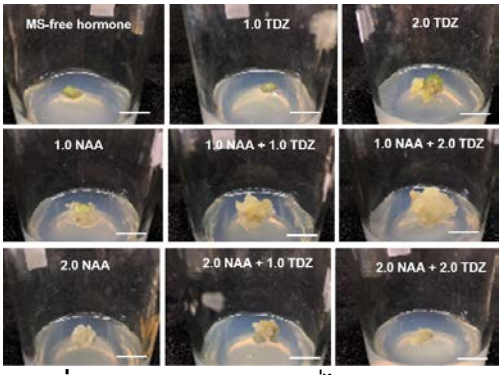
**ตาราง 1** การชักนำให้เกิดแคลลัส (callus) จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 5 สัปดาห์ (mean± SD)

| สารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/L) | | ร้อยละการเกิดแคลลัส | เส้นผ่านศูนย์กลางแคลลัส (cm) | น้ำหนักสดแคลลัส (g) |
|---|---|---|---|---|
| NAA | TDZ | | | |
| 0 | 0 | 0 | – | – |
| | 1 | 0 | – | – |
| | 2 | 100 | $0.53^{cd}$ ±0.55 | $0.17^{b}$ ±0.21 |
| 1 | 0 | 100 | $1.40^{b}$ ±0.17 | $0.30^{b}$ ±0.09 |
| | 1 | 100 | $1.27^{b}$ ±0.21 | $0.38^{b}$ ±0.07 |
| | 2 | 100 | $2.20^{a}$ ±0.17 | $1.00^{a}$ ±0.34 |
| 2 | 0 | 100 | $1.20^{bc}$ ±0.20 | $0.40^{b}$ ±0.08 |
| | 1 | 100 | $1.10^{bc}$ ±0.17 | $0.20^{b}$ ±0.09 |
| | 2 | 100 | $1.45^{b}$ ±0.35 | $0.39^{b}$ ±0.29 |

**หมายเหตุ** อักษรภาษาอังกฤษเหนือค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ช่วงความเชื่อมั่น 95% และชุดการทดลองที่ 1 และ 2 ไม่เกิดแคลลัส

*ผลของ BA และวิตามินบีรวม (B–complex) ต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัสและการชักนำให้เกิดยอด*

เมื่อนำชิ้นส่วนแคลลัสที่ได้มาเพิ่มปริมาณและชักนำให้เกิดยอด พบว่า ชิ้นส่วนแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับวิตามินบีรวม (B–complex) ที่ความเข้มข้นทุกระดับ มีแคลลัสเกิดขึ้นร้อยละ




**ภาพที่ 1** ลักษณะของแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบของฮาโวเทียบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน (mg/L) เป็นเวลา 5 สัปดาห์ (scale bar = 1 cm)

100 และชิ้นส่วนแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับวิตามินบีรวมความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้ได้น้ำหนักสดแคลลัสมากที่สุดเท่ากับ 15.72±0.31 กรัม แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชิ้นส่วนแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียวและอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับวิตามินบีรวมที่ความเข้มข้นทุกระดับ สำหรับการชักนำให้เกิดยอด จะเห็นได้ว่า เมื่อนำชิ้นส่วนแคลลัสของฮาโวเทียมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (ชุดควบคุม) มีการเกิดยอดมากที่สุดเท่ากับ 93.67± 3.21 ยอดต่อชิ้นส่วนแคลลัส ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชุดการทดลองที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียวและในชุดการทดลองที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับวิตามินบีรวมความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ในชุดการทดลองอื่น ๆ ไม่พบการสร้างยอดเกิดขึ้น (ตาราง 2 และภาพที่ 2)

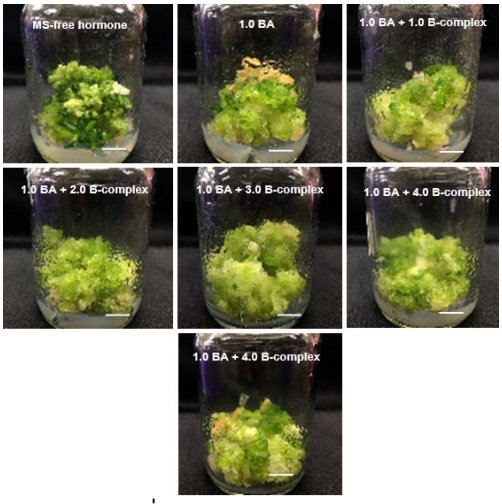
*ผลของ NAA และ IBA ต่อการชักนำให้เกิดรากและการเกิดเป็นต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอด*

จากการนำชิ้นส่วนยอดที่มีขนาด 1.5±0.3 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ IBA ที่ระดับความเข้มข้น 0 0.2 0.4

**ตาราง 2** การเพิ่มปริมาณแคลลัสและการชักนำให้เกิดยอดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับวิตามินบีรวมที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน (mg/L) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (mean±SD)

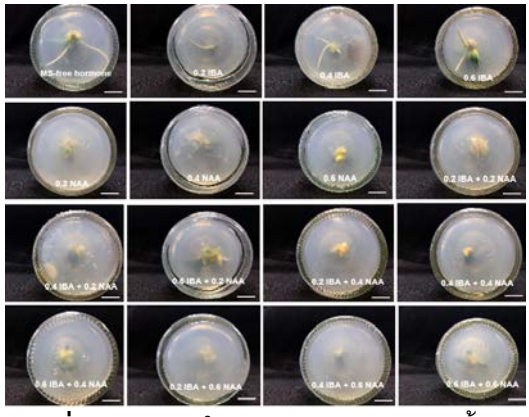
| ชุดการทดลอง | ร้อยละการเกิดแคลลัส | น้ำหนักสดแคลลัส (g) | จำนวนยอด (ยอด/ชิ้นส่วน) |
|---|---|---|---|
| MS–free hormone | 100 | $11.61^{b}$ ±1.63 | $93.67^{a}$ ±3.21 |
| BA 1 | 100 | $14.32^{ab}$ ±1.76 | $51.67^{b}$ ±7.64 |
| BA 1 + B-complex 1 | 100 | $13.29^{ab}$ ±1.64 | $29.67^{c}$ ±0.58$^{c}$ |
| BA 1 + B-complex 2 | 100 | $12.86^{ab}$ ±0.38 | – |
| BA 1 + B-complex 3 | 100 | $15.72^{a}$ ±0.31 | – |
| BA 1 + B-complex 4 | 100 | $13.27^{ab}$ ±1.14 | – |
| BA 1 + B-complex 5 | 100 | $14.28^{ab}$ ±0.80 | – |

**หมายเหตุ** อักษรภาษาอังกฤษเหนือค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ช่วงความเชื่อมั่น 95%




**ภาพ 2** การเพิ่มปริมาณแคลลัสและการเกิดยอดใหม่ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนแคลลัสของฮาโวเทีย บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับวิตามินบีรวม ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน (mg/L) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ (scale bar = 1.0 cm)

และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ IBA ที่ความเข้มข้นทุกระดับไม่มีการสร้างยอดเพิ่มขึ้นจากเดิม โดยมีจำนวนยอดเท่าเดิมคือ 1 ยอดในทุกชุดการทดลอง ในด้านความยาวยอด ชิ้นส่วนยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (ชุดควบคุม) มีความยาวยอดเพิ่มมากขึ้น โดยมีความยาวยอดมากที่สุดเท่ากับ 2.08±0.08 เซนติเมตร และมีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ๆ สำหรับการสร้างใบใหม่ ชิ้นส่วนยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดใบจำนวนมาก โดยมีจำนวนใบเท่ากับ 8.80±0.45 ใบต่อต้น แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดการทดลองที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และชุดการทดลองที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร (8.00±0.00 และ 7.80±0.45 ใบต่อต้น ตามลำดับ) ในด้านความยาวใบเฉลี่ย ชิ้นส่วนยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวใบเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 2.69±0.07 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดการทดลองที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร (2.64±0.11 และ 2.50±0.17 เซนติเมตร ตามลำดับ) ในด้านการชักนำให้เกิดราก เมื่อนำชิ้นส่วนยอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต มีจำนวนรากมากที่สุดเท่ากับ 3.00±0.00 รากต่อต้น รวมถึงมีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 3.03±0.06 เซนติเมตร ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ๆ (ตาราง 3 และภาพที่ 3)



**ภาพที่ 3** การชักนำให้เกิดรากจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของฮาโวเทียบนสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA และ IBA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน (mg/L) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (scale bar = 1.0 เซนติเมตร)

**ตาราง 3** การชักนำให้เกิดรากและการเกิดเป็นต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของฮาโวเทียบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ IBA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน (mg/L) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (mean±SD)

| สารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/L) | | ความยาวยอด (cm) | จำนวนใบ (ใบ/ต้น) | ความยาวใบ (cm) | จำนวนราก (ราก/ต้น) | ความยาวราก (cm) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| NAA | IBA | | | | | |
| 0 | 0 | $2.08^{a}$ ±0.08 | $7.60^{bc}$ ±0.55 | $2.43^{abc}$ ±0.38 | $3.00^{a}$ ±0.00 | $3.03^{a}$ ±0.06 |
| | 0.2 | $1.56^{d}$ ±0.05 | $6.60^{cd}$ ±0.55 | $2.6^{a}$ ±0.11 | $1.33^{b}$ ±0.58 | $1.80^{b}$ ±0.17 |
| | 0.4 | $1.64^{d}$ ±0.05 | $7.00^{bcd}$ ±0.71 | $2.69^{a}$ ±0.07 | $2.67^{b}$ ±0.58 | $1.93^{b}$ ±0.15 |
| | 0.6 | $1.60^{d}$ ±0.07 | $7.40^{bc}$ ±0.55 | $2.50^{ab}$ ±0.17 | $2.00^{b}$ ±0.00 | $1.70^{b}$ ±0.00 |
| 0.2 | 0 | $1.68^{cd}$ ±0.08 | $8.80^{a}$ ±0.45 | $1.14^{fg}$ ±0.10 | $2.00^{b}$ ±0.00 | $1.73^{b}$ ±0.25 |
| | 0.2 | $1.62^{d}$ ±0.04 | $7.60^{bc}$ ±0.55 | $1.11^{fg}$ ±0.07 | $2.00^{c}$ ±0.00 | $0.43^{c}$ ±0.06 |
| | 0.4 | $1.64^{d}$ ±0.05 | $7.60$±$0.55^{bc}$ | $2.11^{c}$ ±0.09 | $2.67$±$0.58^{c}$ | $0.47$±$0.25^{c}$ |
| | 0.6 | $1.72^{bcd}$ ±0.04 | $5.00^{ef}$ ±0.71 | $2.23^{bc}$ ±0.13 | – | – |
| 0.4 | 0 | $1.54^{d}$ ±0.05 | $8.00^{ab}$ ±0.55 | $1.08^{g}$ ±0.09 | $1.00^{c}$ ±0.00 | $0.57^{c}$ ±0.12 |
| | 0.2 | $1.66^{cd}$ ±0.09 | $7.80^{ab}$ ±0.45 | $1.18^{efg}$ ±0.27 | $1.00^{c}$ ±0.00 | $1.63^{b}$ ±0.23 |
| | 0.4 | $1.88^{b}$ ±0.16 | $7.00^{bcd}$±0.00 | $1.72^{d}$ ±0.16 | – | – |
| | 0.6 | $1.84^{bc}$ ±0.15 | $6.60^{cd}$ ±0.00 | $1.66^{d}$ ±0.08 | – | – |
| 0.6 | 0 | $1.66^{cd}$ ±0.05 | $6.00^{de}$ ±0.71 | $1.55^{de}$ ±0.22 | $2.00^{c}$ ±0.00 | $0.47^{c}$ ±0.06 |
| | 0.2 | $1.58^{d}$ ±0.08 | $4.20^{fg}$ ±0.45 | $1.47^{def}$ ±0.11 | $1.00^{c}$ ±0.00 | $0.33^{c}$ ±0.06 |
| | 0.4 | $1.56^{d}$ ±0.05 | $3.20^{g}$ ±0.45 | $1.41^{defg}$ ±0.12 | – | – |
| | 0.6 | $1.54^{d}$ ± 0.05 | $7.60^{bc}$ ±0.55 | $1.54^{de}$ ±0.19 | – | – |

**หมายเหตุ** อักษรภาษาอังกฤษเหนือค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ช่วงความเชื่อมั่น 95%

*ผลของชนิดวัสดุปลูกและวิธีการย้ายปลูกที่เหมาะสมต่อร้อยละการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของต้นกล้า*

จากการนำชิ้นส่วนยอดที่ไม่มีรากขนาด 1.5±0.3 เซนติเมตร มาย้ายปลูกลงบนพีทมอสที่คลุกกับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA และ IBA ความเข้มข้น 0 0.2 0.4 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนยอดที่ปลูกในพีทมอสที่คลุกกับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA และ IBA ที่ความเข้มข้นทุกระดับมีร้อยละการรอดชีวิตเท่ากับ 100% ในด้านการสร้างยอดใหม่ จะเห็นได้ว่าชิ้นส่วนยอดที่ย้ายปลูกในพีทมอสที่คลุกด้วยอาหารสูตร MS ที่เติม NAA และ IBA ที่ความเข้มข้นทุกระดับไม่มีการสร้างยอดเพิ่มขึ้นจากเดิม โดยมีจำนวนยอดเท่าเดิมคือ 1 ยอดในทุกชุดการทดลอง แต่ชิ้นส่วนยอดของฮาโวเทียที่ย้ายปลูกในพีทมอสที่คลุกกับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้มีความ

ยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 2.10±0.10 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดการทดลองที่ย้ายปลูกในพีทมอสที่คลุกกับอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร (2.06±0.12 และ 1.97±0.06 เซนติเมตร ตามลำดับ) สำหรับการสร้างใบใหม่พบว่าชิ้นส่วนยอดที่ย้ายปลูกในพีทมอสที่คลุกกับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้มีการสร้างใบใหม่เพิ่มขึ้น โดยมีจำนวนใบของต้นกล้ามากที่สุดที่มีค่าเท่ากันเท่ากับ 8.67±0.57 ใบต่อต้น แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับต้นกล้าที่ย้ายปลูกในพีทมอสที่คลุกกับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.4 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร (7.67±0.57  7.33±0.57 และ 7.33±0.57 ใบต่อต้น ตามลำดับ) ในทางตรงกันข้ามชิ้นส่วนยอดของฮาโวเทียที่ย้ายปลูกในพีทมอสที่คลุกกับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้ใบยืดยาวขึ้น โดยมีความยาวใบเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 1.95±0.05 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับการย้ายปลูกในพีทมอสที่คลุกกับอาหารสูตร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และต้นกล้าที่ย้ายปลูกในพีทมอสที่คลุกด้วยอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร (1.95±0.14 และ 1.75±0.12 เซนติเมตร ตามลำดับ) ในด้านการชักนำให้เกิดราก ชิ้นส่วนยอดของฮาโวเทียที่ย้ายปลูกในพีทมอสที่คลุกกับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.2 และ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้สร้างรากมากขึ้น โดยมีจำนวนรากมากที่สุดเท่ากับ 3.33±0.58 รากต่อต้น ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ๆ ส่วนการปลูกในพีทมอสที่คลุกกับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้รากยืดยาวขึ้น โดยมีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 2.05±0.06 เซนติเมตร และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับต้นกล้าที่ย้ายปลูกในพีทมอสที่คลุกกับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีความยาวรากเฉลี่ยเท่ากับ 1.96±0.05 เซนติเมตร (ตาราง 4 และภาพที่ 4)

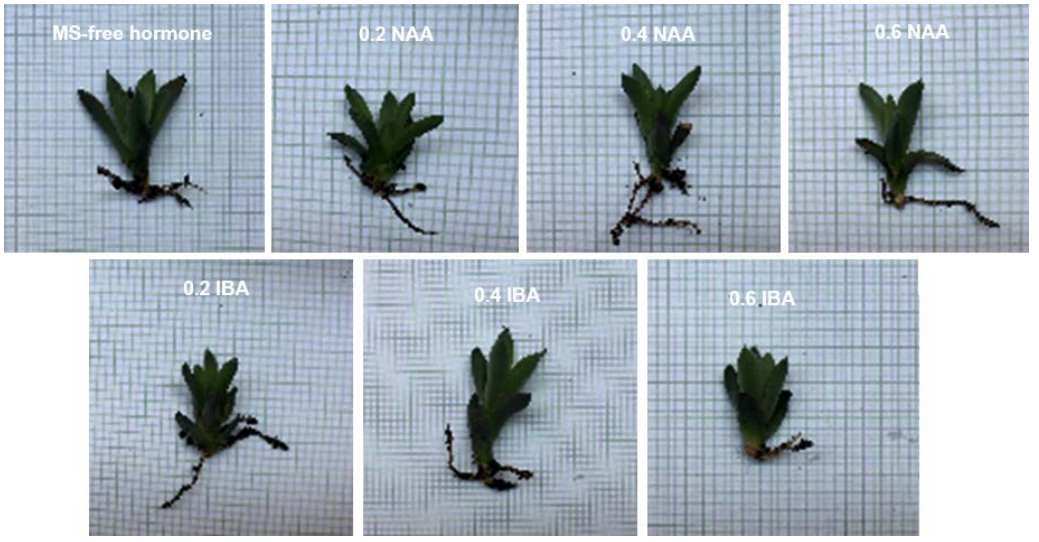
**อภิปรายผล**

จากการนำชิ้นส่วนใบของฮาโวเทียจากต้นกล้าที่ปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน คือ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0  1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน คือ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0  1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนแคลลัสที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุด โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและน้ำหนักสดของแคลลัสมากที่สุด ซึ่งลักษณะแคลลัสที่ได้มีลักษณะเกาะตัวแน่น (compact callus) นอกจากนี้การเติม NAA ร่วมกับ TDZ ที่ความเข้มข้นทุกระดับ สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ทั้งหมด (ร้อยละ 100) ซึ่งแตกต่างจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าชิ้นส่วนใบของฮาโวเทียสามารถ

**ตาราง 4** ผลของชนิดวัสดุปลูกและวิธีการย้ายปลูกที่เหมาะสมต่อร้อยละการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของต้นกล้าฮาโวเทียหลังการย้ายปลูกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (mean±SD)

| พีทมอส+สารควบคุมการเจริญเติบโต (mg/L) | ร้อยละการรอดชีวิต | ความยาวยอด (cm) | จำนวนใบ (ใบ/ต้น) | ความยาวใบ (cm) | จำนวนราก$^{ns}$ (ราก/ต้น) | ความยาวราก (cm) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| MS (ชุดควบคุม) | 100 | 1.46$^{c}$ ±0.05 | 6.67$^{b}$ ±0.57 | 1.95$^{a}$ ±0.14 | 2.67±0.58 | 1.38$^{cd}$ ±0.03 |
| NAA 0.2 | 100 | 2.10$^{a}$ ±0.10 | 8.67$^{a}$ ±0.57 | 1.75$^{ab}$ ±0.12 | 3.33±0.58 | 1.80$^{b}$ ±0.14 |
| NAA 0.4 | 100 | 1.97$^{ab}$ ±0.06 | 7.67$^{ab}$ ±0.57 | 1.62$^{bc}$ ±0.08 | 3.33±0.58 | 1.96$^{ab}$ ±0.05 |
| NAA 0.6 | 100 | 1.95$^{ab}$ ±0.14 | 7.33$^{ab}$ ±0.57 | 1.95$^{a}$ ±0.05 | 2.33±0.58 | 2.05$^{a}$ ±0.06 |
| IBA 0.2 | 100 | 1.57$^{c}$ ±0.05 | 8.67$^{a}$ ±0.57 | 1.22$^{d}$ ±0.02 | 2.00±0.00 | 1.23$^{d}$ ±0.07 |
| IBA 0.4 | 100 | 2.06$^{a}$ ±0.12 | 7.33$^{ab}$ ±0.57 | 1.43$^{cd}$ ±0.06 | 3.00±0.00 | 1.31$^{d}$ ±0.08 |
| IBA 0.6 | 100 | 1.83$^{b}$ ±0.06 | 7.00$^{b}$ ±0.00 | 0.92$^{e}$ ±0.14 | 2.33±0.58 | 1.57$^{c}$ ±0.05 |

**หมายเหตุ** อักษรภาษาอังกฤษเหนือค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ช่วงความเชื่อมั่น 95% และ ns หมายถึง ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ช่วงความเชื่อมั่น 95%




**ภาพที่ 4** ลักษณะของต้นกล้าที่ได้จากการย้ายปลูกชิ้นส่วนยอดในพีทมอสที่ผสมกับสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA และ IBA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน (mg/L) เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน คือ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับไซโตไคนินคือ TDZ ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่ง Irvani *et al*. (2010) รายงานว่า NAA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินที่สามารถการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีและชี้ให้เห็นว่าการเติม NAA ที่ระดับความเข้มข้นสูงจะยับยั้งการเจริญเติบโตของแคลลัส แต่การเติมออกซินร่วมกับไซโตไคนินสามารถช่วยกระตุ้นให้เกิดแคลลัสได้ดี และ Chuychay *et al*. (2009) รายงานว่า TDZ สามารถช่วยกระตุ้นให้เซลล์พัฒนาเป็นแคลลัส โซมาติกเอมบริโอและยอดได้ และผลการทดลองในครั้งนี้สอดคล้องกับ Kim *et al*. (2018) ที่ศึกษาผลของ

สารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการเพาะเลี้ยงของ *H. maughanii* บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ระดับความเข้มข้น 0 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ ระดับความเข้มข้น 0 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการทดลองพบว่าการเติม NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีร้อยละการเกิดแคลลัสมากที่สุดถึงร้อยละ 100 นอกจากนี้การเติม NAA ความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดได้ในเวลาเดียวกัน อย่างไรก็ตามการใช้ออกซินและไซโตไคนินร่วมกันอย่างเหมาะสม มีความสำคัญต่อการชักนำให้เกิดแคลลัส และการชักนำให้เกิดอวัยวะของพืชเป็นอย่างมาก

ในการเพิ่มปริมาณแคลลัสและชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนของแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน และวิตามินบีรวมที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน โดยนำชิ้นส่วนแคลลัสมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน คือ BA ในระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับวิตามินบีรวมความเข้มข้น 0 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต และอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตรเพียงอย่างเดียว รวมถึงอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับวิตามินบีรวมที่ความเข้มข้นทุกระดับ สามารถเพิ่มปริมาณการเกิดแคลลัสใหม่ได้ร้อยละ 100 และจากการทดลองนี้พบว่า ชิ้นส่วนแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับวิตามินบีรวมความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสดแคลลัสมากที่สุด สามารถใช้ในการเพิ่มปริมาณแคลลัสได้ดี เมื่อเทียบการการเติม NAA ร่วมกับ TDZ ซึ่งจะเห็นได้ว่า การเติม BA สามารถชักนำให้เพิ่มปริมาณแคลลัสได้และมียอดใหม่เกิดขึ้นด้วย เนื่องจาก BA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินสังเคราะห์ สามารถช่วยในการแบ่งเซลล์ การชักนำให้เกิดยอดและราก การเจริญของคลอโรพลาสต์ และการขยายขนาดเซลล์ (Bunnag, 2017) ผลที่ได้จากการทดลองนี้สอดคล้องกับ Chen *et al*. (2019) ที่ศึกษาผลของความเข้มแสงและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการเพิ่มปริมาณแคลลัสและการชักนำให้เกิดยอดของ *Haworthia* โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนก้านช่อดอกบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้ความเข้มแสง 10 μmol $m^{-2}$ $s^{-1}$ มีร้อยละการชักนำให้เกิดแคลลัสมากที่สุดเท่ากับ 93.15 รวมถึงการชักนำให้เกิดยอดมากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.0–0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร รวมถึงงานวิจัยของ Li *et al*. (2017) ที่ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของ *H. turgida* Haw. จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีร้อยละการชักนำให้เกิดแคลลัสมากที่สุดเท่ากับ 95.6 และจากการทดลองนี้ยังพบอีกว่า การเติมวิตามินบีรวม มีผลต่อการเพิ่มปริมาณของแคลลัสของฮาโวเทีย ซึ่ง Phraprasert (2015) ได้ศึกษาเกี่ยวกับบทบาทของวิตามินบี 1 หรือไทอะมีน (thiamine)

ในพืชพบว่า วิตามินบี 1 เป็นสารที่สร้างในพลาสทิดของเซลล์ กระบวนการสร้างประกอบด้วยการสังเคราะห์ไทอะโซล (thiazole) และไพริมิดีน (pyrimidine) โดยไทอะมีนที่มีบทบาทภายในเซลล์คือไทอะมีนไพโรฟอสเฟต (thiamine pyrophosphate: TPP) ที่ทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์ (cofactor) ของเอนไซม์ต่าง ๆ ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต การสังเคราะห์ด้วยแสง และเปลี่ยนไนโตรเจนอนินทรีย์เป็นไนโตรเจนอินทรีย์ รวมถึงไทอะมีนยังมีบทบาททำให้พืชสามารถต้านทานความเครียดที่เกิดจากเกลือโซเดียมคลอไรด์ในดิน ภาวะแล้ง สารต้านอนุมูลอิสระ และเชื้อก่อโรคจากสิ่งแวดล้อมได้มากขึ้น Abrahamian and Kantharajah (2011) พบว่า วิตามินเป็นสารประกอบที่สังเคราะห์และจำเป็นในพืช สำคัญกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช การเติมวิตามินมักไม่พบบ่อย แต่มีผลทางตรงและทางอ้อมต่อการเจริญเติบโตของแคลลัส จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าวิตามินบีเกี่ยวข้องกับไซโตไคนินและมีบทบาทในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของแคลลัสและยอด โดยวิตามินบีรวมที่ระดับความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้แคลลัสมีน้ำหนักสดมากที่สุด แสดงให้เห็นว่าเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สามารถใช้เพิ่มปริมาณแคลลัส

สำหรับการชักนำให้เกิดรากและการเป็นต้นใหม่ จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดบนสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน คือ NAA ร่วมกับ IBA ในระดับความเข้มข้น 0 0.2 0.4 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ IBA ที่ความเข้มข้นทุกระดับไม่มีการสร้างยอดใหม่เพิ่มขึ้น แต่การเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำให้มีความยาวยอดเพิ่มมากขึ้น และอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้มีการสร้างใบจำนวนมาก โดยมีจำนวนใบมากที่สุด ส่วนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ใบมีความยาวใบมากที่สุด แต่ในส่วนของการชักนำให้เกิดราก จะเห็นว่า อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต มีผลชักนำในการเกิดรากได้ดี โดยมีจำนวนรากและความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด อาจเนื่องจากอาหารสูตร MS เป็นสูตรที่มีสารอาหารครบถ้วน หากเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตมากเกินไปจะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชได้ และชิ้นส่วนของพืชนั้นอาจมีการสะสมสารควบคุมการเจริญเติบโตออกซินในปริมาณสูง จึงส่งผลทำให้พืชพัฒนาและงอกรากจำนวนมาก ซึ่ง Supinrat and Supinrat (2014) พบว่า ความเข้มข้นของออกซินที่ใช้กันทั่วไป (NAA หรือ IBA) คือ 1–2 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่พืชบางชนิดสามารถออกรากได้ในอาหารที่ไม่มีออกซิน จากผลการศึกษาต้นอ่อนกล้วยไม้ช้างการ์ตูนที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม NAA:IBA อัตราส่วน 1:2 2:1 และ 3:3 พบว่าไม่เกิดราก และบางต้นตาย อาจเป็นเพราะออกซินสังเคราะห์บางชนิดเมื่อใช้ในความเข้มข้นสูงจะยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน ทำให้พืชไม่สามารถสังเคราะห์โปรตีนได้และตาย อย่างไรก็ตาม ความเข้มข้นของออกซินที่เหมาะสมจะแตกต่างกันไปตามชนิดพืชโดยต้องไม่ให้ในปริมาณสูงเกินไป เพราะจะยับยั้งการเจริญของตา ทำให้ใบเหลือง ร่วง และตายในที่สุด นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับ Srichan *et al*. (2016) ที่ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินคือ NAA ที่มีผล

ต่อการชักนำให้เกิดรากของสตรอเบอรี่พันธุ์พระราชทาน 80 จากชิ้นส่วนของยอด พบว่า การเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS ที่ระยะเวลา 7 วัน เริ่มพบการเจริญเติบโตของราก แต่ในทางตรงกันข้ามไม่พบการเจริญเติบโตของรากที่ระยะเวลาเดียวกันในสูตรอาหารอื่น ๆ แต่เริ่มพบที่ระยะเวลาหลังจาก 7 วันเป็นต้นไป และเมื่อพิจารณาที่ระยะเวลา 56 วัน พบว่า อาหารสูตร MS (ชุดควบคุม) สามารถชักนำให้ยอดพัฒนาเป็นรากได้มากที่สุด โดยมีจำนวนรากเท่ากับ 16.93 ราก และความยาวรากเท่ากับ 4.31 เซนติเมตร และ Puttarak (2013) รายงานว่า อาหารสูตร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำให้เกิดยอดและรากได้ดีขึ้นกับความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืชบางชนิด ดังในผลการทดลองนี้ ที่แสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำให้เกิดรากได้ นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับ Ara *et al.* (2012) ที่เปรียบเทียบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากของสตรอเบอรี่สายพันธุ์ JP–2 โดยใช้สูตรอาหารที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA และ IBA 4 ระดับ ได้แก่ 0.1 0.5 1.0 และ 2.0 และสูตรอาหารสังเคราะห์ MS และ ½ MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่า สูตรอาหารสังเคราะห์ MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตสามารถชักนำให้เกิดรากได้ถึงร้อยละ 100 โดยมีรากจำนวนมากถึง 24.5 รากและความยาวรากถึง 5.3 เซนติเมตร และยังพบว่าสูตรอาหารดังกล่าวใช้ระยะเวลาการเกิดรากน้อยที่สุดเพียง 7–8 วัน

ส่วนการศึกษาผลของวัสดุปลูกและวิธีการย้ายปลูกที่เหมาะสมต่อร้อยละการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของต้นกล้าฮาโวเทีย โดยนำชิ้นส่วนยอดที่ไม่มีรากย้ายปลูกลงในพีทมอสที่คลุกด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน คือ NAA และ IBA ที่ความเข้มข้น 0 0.2 0.4 และ 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนยอดที่ย้ายปลูกลงในพีทมอสที่คลุกกับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA และ IBA ที่ความเข้มข้นทุกระดับมีการรอดชีวิตร้อยละ 100 และชิ้นส่วนยอดที่ย้ายปลูกในพีทมอสที่คลุกกับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.2 และ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากมากที่สุด รวมถึงมีความยาวยอดมากที่สุด นอกจากนี้การปลูกในพีทมอสที่คลุกกับอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.6 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้รากและใบยืดยาวได้มากที่สุด สำหรับผลของ IBA จะเห็นได้ว่า ชิ้นส่วนยอดที่ย้ายปลูกในพีทมอสที่คลุกด้วยเติม IBA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลเพิ่มจำนวนใบได้มากที่สุด ด้วย การทดลองนี้ใช้พีทมอสเป็นวัสดุปลูก เนื่องจากพีทมอสมีข้อดีคือเป็นวัสดุปลูกที่มีความเป็นกรดอ่อน ไม่ผุพังเร็ว มีฟอสฟอรัสในปริมาณที่เหมาะสม และช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของราก เพิ่มอัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนที่ฟื้นตัวหลังการย้ายปลูก ทำให้ต้นกล้ามีความแข็งแรงขึ้น (Thanasombat *et al*., 2009) Chumphucam *et al.* (2016) ศึกษาผลของวัสดุปลูกต่อการงอกของเมล็ด การรอดชีวิต และการเจริญเติบโตของต้นกล้ามัลเบอร์รี่พันธุ์เวียดนาม GQ2 ที่ใช้วัสดุปลูกที่แตกต่างกัน พบว่า ร้อยละการรอดชีวิตของต้นกล้ามัลเบอร์รี่ที่ย้ายปลูกในถ่านแกลบ:ทรายหยาบ:พีทมอส (1:1:1) มีร้อยละการรอดชีวิตสูงที่สุดคือ 73.33 รองลงมาคือพีทมอส (ร้อยละ 53.33) แสดงให้เห็นว่าพีทมอสสามารถดูดซับธาตุอาหาร

ได้ดี ทำให้พืชนำน้ำและธาตุอาหารไปใช้ได้อย่างเต็มที่และมีความพรุนสูงทำให้พืชได้รับอากาศและดูดซับธาตุอาหารเพื่อใช้ในกระบวนการเจริญเติบโตได้ดี สำหรับการคลุกด้วยอาหารสูตร MS ที่เติม IBA และ NAA ที่ความเข้มข้นทุกระดับ มีผลส่งเสริมการเจริญของยอดและรากได้ดี เนื่องจาก NAA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินมีผลชักนำให้เกิดรากและเพิ่มจำนวนรากได้ดี (Kordi *et al*., 2013) ซึ่ง Pangmuang and Kongbangkerd (2012) รายงานว่าการเลี้ยงต้นอ่อน *Dendrobium lamellatum* Lindl. บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการแตกรากดีที่สุด เนื่องจากสารกลุ่มออกซินเมื่อใช้ในระดับความเข้มข้นที่ต่ำจะมีผลกระตุ้นให้เนื้อเยื่อพืชมีการแบ่งเซลล์มากขึ้น ช่วยให้มีการสร้างรากหรือยอดใหม่ขึ้นมา จึงนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชได้สำเร็จ แต่ทั้งนี้ต้องขึ้นอยู่กับชนิดพันธุ์ของพืชและความเหมาะสมระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อพืชด้วย และ Muangkaewngam and Taechato (2016) ศึกษาการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดดาหลา บนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินคือ IBA NAA และ IAA พบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดดาหลาบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA มีร้อยละการเกิดรากและจำนวนรากมากที่สุด แสดงให้เห็นว่า IBA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินที่มีประสิทธิภาพชักนำรากพืชในสภาพปลอดเชื้อได้

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์สำหรับการวิจัยในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

Abrahamian, P., and Kantharajah, A. (2011). Effect of vitamins on *in vitro* organogenesis of plant. **American Journal of Plant Sciences** 2: 669–674.

Ara, T., Karim, R., Karim, M. R., Islam, R., and Hossain, M. (2012). Callus induction and shoot regeneration in strawberry (Fragaria x ananassa Duch.). **International Journal of Bioscienes** 10: 93–100.

Bunnag, S. (2017). **Plant Tissue Culture and Gene Transplantation**. Khon Kaen: Khon Kaen University Press. (in Thai)

Chen, Y. M., Huang, J. Z., Hou, T. W., and Pan, I. C. (2019). Effects of light intensity and plant growth regulators on callus proliferation and shoot regeneration in the ornamental succulent *Haworthia*. **Botanical Studies** 60(10): 1–8.

Chumphucam, J., Ta–kaew, S., and Chanchula, N. (2016). Effect of planting materials on seed germination, survival and growth of Vietnam mulberry seedlings. GQ2. **Thai Journal of Science and Technology** 5(3): 283–295. (in Thai)

Chuychay, W., Chuawong, K., Maisungnoen, C., Kanthama, P., Opromsap, C., Kongtum, W., and Thamtun, N. (2009). Effect of thidiazuron on glyphosate phytotoxicity in *Ipomoea aquatica* seedling. **Proceeding of the Conference National Kasetsart University 9th Kamphaeng Saen Campus** (pp. 2213–2218). Nakhon Pathom, Kasetsart University. (in Thai)

Irvani, N., Solouki, M., Omidi, M., Zare A, R., and Shahnazi, S. (2010). Callus induction and plant regeneration in *Dorem ammoniacum* D., an endangered medicinal plant. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 100: 293–299.

Khamsing, A. (2017). ***Harvotia* Extra Income**. Retrieved from https://www.sentangsedtee.com/farming-trendy/article_21675, June 1, 2020. (in Thai)

Kim, Y. H., Kim, H. H., Lee, G. Y., Lee, J. H., Jung, J. H., Pablo, D. S., and Lee, S. D. (2018). Effect of growth regulators on *in vitro* mass propagation of *Haworthia maughanii*. **Journal of Plant Biotechnology** 45: 369–374.

Kordi, M., Kaviani, B., and Hashemabadi, D. (2013). *In vitro* propagation of *Kalanchoe blossfeldiana* using BA and NAA. **European Journal of Experimental Biology** 3(1): 285–288.

Liu, B., Fang, H., Meng, C., and Chen, M. (2017). Establishment of a rapid and efficient micropropagation system for succulent plant *Haworthia turgida* Haw. **Horticultural Science** 5(9): 1278–1282.

Muangkaewngam, A., and Taechato, S. (2016). Effect of paclobutrazol on *in vitro* culture of torch ginger (*Etlingera elatior* [Jack] R. M.Smith.). **Princess of Naradhiwas University Jounal** 8(1): 111–116. (in Thai)

Paeng–ngam, A. (2017). **Cultivation of *Haworthia* succulent plants to the Japanese and foreign markets**. Retrieved from https://www.palangkaset.com, June 1, 2020. (in Thai)

Pangmuang, W., and Kongbangkerd, A. (2012). Effects of plant growth regulators on development of orchid seedlings in aseptic conditions. **Proceeding of the Conference Report Phayao Research: 1st Agricultural Research Group**. Phayao: Phayao University. (in Thai)

Phraprasert, P. (2015). The role of thiamine (vitamin B1) in plants. **Journal of Burapha Science** 20(2): 221–231. (in Thai)

Puttarak, P. (2013). **Media Formulas for Plant Tissue Culture: Plant Tissue Culture**. Chiang Mai: Nop Buri. (in Thai)

Srichan, M., Sujipuli, K., Pipatthanawong, N., and Chaiprasat, P. (2016). Effect of BA and NAA on shoot and root induction of strawberry variety Phrarajchatan 80 in Aseptic condition. **Songklanakarin Journal of Plant Science** 3(1): 70–75. (in Thai)

Supinrat, S., and Supinrat, I. (2014). Effect of IBA and NAA on root induction of *Rhynchostylis gigantea* (Lindl.) Ridl. 'cartoon' in the aseptic technique. **Journal of Science and Technology** 22(4): 507–514. (in Thai)

Thanasombat, M., Bunjong, Y., Tangpradit, P., Wongwaen, P., and Pankaew, Y. (2009). Development and propagation of *Nepenthes* (Part 2) propagation by tissue culture. **Agricultural Science News** 54(3):15–22. (in Thai)