บทนำ

เฮลิโคเนีย (Heliconia) เป็นไม้ล้มลุก ลำต้นและใบคล้ายกล้วย ไม่มีเนื้อไม้ มีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนของทวีปอเมริกา ในอเมริกากลางและอเมริกาใต้ หมู่เกาะทางตอนใต้ของมหาสมุทรแปซิฟิก และอินโดนีเซีย (วชิรพงศ์ หวลบุตตา, 2538) ดอกมีสีสันสวยงามหลายสีหลายแบบ (Berry and Kress,1991) บางพันธุ์มีหลายสีในดอกเดียวกัน ปัจจุบันมีหลากหลายพันธุ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งมีสีและรูปแบบสวยงามแปลกตา บางพันธุ์เหมาะสำหรับปลูกเป็นไม้ตัดดอก (Broschat and Donselman, 1983) โดยเฉพาะพันธุ์ขนาดกลาง และเล็กที่มีช่อดอกแบบช่อตั้ง (erect) เนื่องจากบานทน สามารถนำมาจัดแจกันหรือจัดประดับตกแต่งสถานที่ได้หลายวัน โดยไม่จำเป็นต้องให้น้ำบ่อยและให้สารป้องกันการเหี่ยว เนื่องจากดอกที่ตัดมาแล้วจะไม่บานต่อ ดังนั้นจึงสามารถตัดดอกที่บานพอเหมาะกับความต้องการในการประดับตกแต่งแต่ละแบบ นอกจากนั้นบางพันธุ์มีขนาดต้นและดอกขนาดใหญ่ อาจมีช่อดอกแบบช่อตั้งหรือแบบช่อห้อย (pendent) พันธุ์เหล่านี้เหมาะสำหรับการจัดตกแต่งสวน แต่บางครั้งอาจตัดดอกมาจัดตกแต่งสถานที่ก็ได้ ส่วนพันธุ์เล็กนอกจากเป็นไม้ตัดดอกแล้ว อาจปลูกในกระถางและนำมาตกแต่งสถานที่ได้ด้วย

โดยทั่วไปการขยายพันธุ์เฮลิโคเนียทำได้ 2 วิธี (วชิรพงศ์ หวลบุตตา, 2538) วิธีแรกคือการเพาะเมล็ด บางพันธุ์จะติดเมล็ดเองในธรรมชาติ สามารถนำมาเพาะได้ แต่เมล็ดมีเปลือกแข็งทำให้ใช้เวลานานในการงอกจากเมล็ดและบางครั้งอาจจะไม่งอก อีกวิธีเป็นการแยกหน่อหรือแบ่งกอ โดยตัดแยกเหง้าให้ติดต้นที่มีใบอย่างน้อย 1 ต้น มีรายงานว่าบางพันธุ์ต้องตัดให้ติดต้นอย่างน้อย 3 ต้น จึงจะประสบความสำเร็จ (Broschat and Donselman, 1983) วิธีนี้เป็นที่นิยมมากกว่าวิธีแรก เพราะหลังปลูกให้ดอกได้เร็วกว่า ในปัจจุบันมีความพยายามในการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Nathan *et al.*, 1992) ซึ่งจะได้จำนวนต้นมากกว่าในเวลาที่น้อยกว่า แต่มีรายงานความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงตายอดของบางพันธุ์เท่านั้น การวิจัยครั้งนี้จึงพยายามหาวิธีการ (protocol) ที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์เฮลิโคเนียพันธุ์ต่างๆ โดยเฉพาะพันธุ์ที่แตกกอได้ช้า

<u>วัตถุประสงค์ของการทดลอง</u>

1. เพื่อหาวิธีการในการเพิ่มจำนวนต้นเฮลิโคเนียในหลอดทดลอง จากวิธีการที่ได้อาจนำมาใช้ในการขยายพันธุ์เฮลิโคเนียที่ขยายพันธุ์ได้ช้าให้ได้ต้นเหมือนพันธุ์เดิม

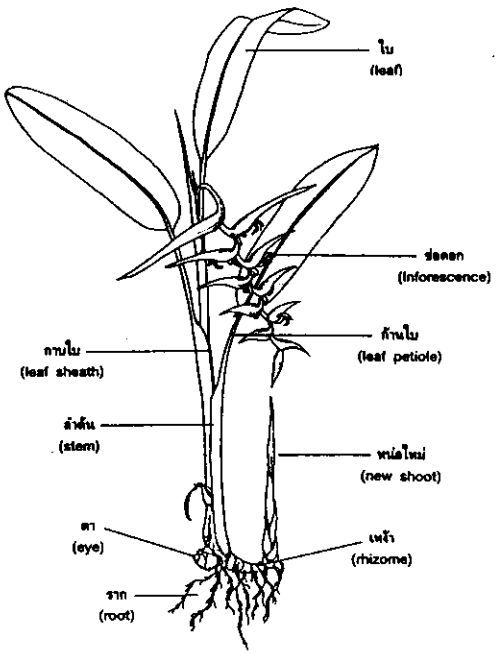
2. เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส จากแคลลัสที่ได้อาจนำมาชักนำให้เกิดเป็นต้น (organogenesis) หรืออาจเกิดเป็นเอมบริโอ (somatic embryogenesis) ซึ่งอาจได้ต้นที่มีลักษณะแตกต่างไปจากต้นเดิม และอาจเป็นลักษณะดีเหมาะสำหรับใช้เป็นไม้ตัดดอกหรือประดับตกแต่งสวน

การตรวจเอกสาร

Heliconia เป็น genus เดียวในวงศ์ Heliconiaceae อาจมีจำนวนมากถึง 250 spp. แต่มีเพียง 180 spp. เท่านั้นที่มีรายงานไว้ (Berry and Kress, 1991) ชื่อเฮลิโคเนียมาจากชื่อภูเขา "เฮลิคอน (Helikon)" ในประเทศกรีก ซึ่งเป็นที่สถิตของเทพ Muses (วชิรพงศ์ หวลบุตตา, 2538) จึงจะเห็นว่าเฮลิโคเนียมีลักษณะใกล้เคียงกับวงศ์กล้วย (Musaceae) มาก นอกจากนั้นยังคล้ายปักษาสวรรค์หรือ bird of paradise (วงศ์ Strelitziaceae) มาก จนบางครั้งมีคนเข้าใจผิดคิดว่าเป็นชนิดเดียวกัน นอกจากพืช 2 วงศ์นี้ เฮลิโคเนียยังมีวงศ์อื่นๆที่ใกล้เคียงกัน เช่น วงศ์ขิง (Zingiberaceae) และวงศ์พุทธรักษา (Cannaceae) เป็นต้น

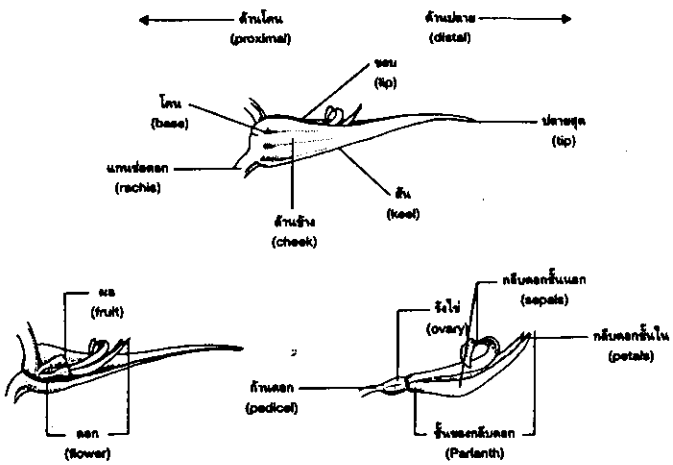
ลักษณะของเฮลิโคเนีย (วชิรพงศ์ หวลบุตตา, 2538 และ Berry and Kress, 1991)

การเจริญเติบโตของเฮลิโคเนียเกิดจากส่วนลำต้นใต้ดินที่เรียกเหง้า (rhizome) ทำให้แตกเป็นกอ ส่วนต้นเหนือดินเป็นส่วนของกาบใบที่ห่อหุ้มเกยทับกัน ทำให้ดูเหมือนเป็นลำต้น จึงเรียกว่าลำต้นเทียม (pseudostem) ใบประกอบด้วยก้านใบ (petiole) และแผ่นใบ (leaf blade) จัดเรียงสลับตรงข้ามกัน 2 แถวในแนวตั้งระนาบเดียว (distichous) (ภาพที่ 1) ปกติแผ่นใบมีสีเขียวทั้งหมด แต่บางชนิดใต้ใบหรือเส้นกลางใบอาจมีสีแดงหรือแดงน้ำตาล ลักษณะและการจัดเรียงของใบถ้าคล้ายกล้วยเรียก musoid ถ้าคล้ายพุทธรักษาเรียก cannoid และถ้าคล้ายขิงเรียก zingiberoid



ภาพที่ 1 ลักษณะต้นและช่อดอกเฮลิโคเนีย (วชิรพงศ์ หวลบุตตา, 2538)

ช่อดอก (inflorescence) มีสีสันสวยงามเกิดที่ส่วนยอดของต้นเหนือดิน อาจเป็นแบบช่อตั้ง (erect) หรือแบบช่อห้อย (pendent) ประกอบด้วยก้านช่อดอก (peduncle) และดอกย่อยบนแกนช่อดอก (rachis) ส่วนที่มีสีสันสวยงามหลายสีและหลายแบบนั้นไม่ใช่กลีบดอก แต่เป็นกาบรองดอก (bract) ที่ห่อหุ้มดอกย่อยไว้ภายใน (ภาพที่ 2) กาบรองดอกอาจเรียงสลับกันเป็น 2 แถวในแนวตั้งระนาบเดียวกัน หรืออาจเรียงเวียนเป็นเกลียว (spiral) เนื่องจากการบิดตัวของแกนช่อดอก นอกจากนั้นแกนช่อดอกอาจมีลักษณะซิกแซก กาบรองดอกมีตั้งแต่ 3-30 กาบต่อช่อ แต่ละกาบมีดอกย่อยจำนวนแตกต่างกัน บางชนิดอาจมีมากถึง 50 ดอกต่อกาบ



ภาพที่ 2 ลักษณะกาบรองดอก (inflorescence bract) และดอกย่อยของเฮลิโคเนีย

(วชิรพงศ์ หวลบุตตา, 2538)

ดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศ โดยมีเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียในดอกเดียวกัน วงกลีบรวม (perianth) ประกอบด้วยกลีบดอกชั้นนอกหรือกลีบเลี้ยง (sepal) 3 กลีบ และกลีบดอกชั้นใน (petal) 3 กลีบ ส่วนโคนของกลีบทั้งสองชั้นเชื่อมติดกัน (ภาพที่ 2) เมื่อดอกบานกลีบดอกชั้นนอกจะแยกเป็นอิสระจากกลีบอื่น ให้พาหะถ่ายเรณู (pollinator) เข้าถึงดอกได้และเกิดการผสมพันธุ์ขึ้น ดอกย่อยมีเกสรตัวผู้ที่สืบพันธุ์ได้ (fertile) 5 อัน อีก 1 อันเป็นหมัน (sterile staminode) ดอกจะบานเพียง 1 วัน หลังจากนั้นจะหลุดร่วงไปเหลือเพียงรังไข่ (ovary) เนื่องจากกลีบดอกมีลักษณะเฉพาะของแต่ละชนิด และแต่ละสายพันธุ์ จึงใช้เป็นลักษณะหนึ่งในการจำแนกชนิดและสายพันธุ์ รังไข่อยู่ใต้กลีบดอกมีสีแตกต่างกัน มีก้านดอกย่อย (pedicel) สั้น ผลแก่มีเนื้ออ่อน นุ่มภายนอก ส่วนชั้นในมีลักษณะแข็งห่อหุ้มเมล็ดจำนวน 1-3 เมล็ดต่อผล

การผสมพันธุ์ของเฮลิโคเนีย (hybridization) (Berry and Kress, 1991)

พาหะถ่ายเรณูจะต่างชนิดในแต่ละเขต ในอเมริกาเขตร้อนส่วนใหญ่เป็นนกฮัมมิงเบิร์ด ส่วนพวกที่อยู่ใน Old World เป็นค้างคาวกินน้ำหวานขนาดเล็ก จากการตรวจสอบพบว่าเฮลิโคเนีย

ส่วนใหญ่ผสมตัวเองได้ (self compatible) การผสมข้ามจึงไม่เกิดขึ้น เพราะเรณูของชนิดหนึ่งจะถูกยับยั้งการงอกโดยอีกชนิดหนึ่ง อย่างไรก็ตามพบว่ามีลูกผสมที่เกิดเองตามธรรมชาติ (natural hybrid) เกิดขึ้น แม้จะพบน้อยมากก็ตาม ใน Guyana เกิดลูกผสมระหว่าง *H. psittacorum* X *H. spathocircinata* ได้พันธุ์ Golden Torch ซึ่งปลูกกันมาก และที่ Windwad Islands (Caribbean) พบลูกผสม *H. caribaea* X *H. bihai* นอกจากนั้นยังมีลูกผสมระหว่างพวกช่อห้อยกับช่อตั้ง เช่น *H.* psittacorum X *H.* marginata

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเฮลิโคเนีย

งานวิจัยเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเฮลิโคเนียมีน้อยมาก รายงานการขยายพันธุ์เฮลิโคเนียในหลอดทดลองเกิดขึ้นในปี พ.ศ.2535 ซึ่งเป็นงานวิจัยในสิงคโปร์ (Nathan *et al.*, 1992) และในปีต่อมาได้ทดลองชักนำให้เกิดต้น (regeneration) จากแคลลัส (Nathan *et al.*, 1993) เพื่อหาวิธีการที่จะนำมาใช้ในการผสมข้ามพันธุ์ โดยการผสมเซลล์โซมาติก (somatic hybridization)

1. การขยายพันธุ์เฮลิโคเนียในหลอดทดลอง (*in vitro* propagation)

Nathan และคณะ (1992) ประสบความสำเร็จในการเพิ่มจำนวนต้น จากการเพาะเลี้ยงตา (bud culture) ทั้งตายอดและตาข้างของเฮลิโคเนีย (*H. psittacorum*) พันธุ์ Golden Torch, Orange, Andromeda, Sassy Kaleidoscope และพันธุ์ช่อดอกห้อย (*H. rostrata*)

การเตรียมชิ้นส่วนพืชโดยขุดต้นติดเหง้ามาตัดราก ตัดใบ และลอกกาบใบออก นำมาล้างน้ำให้สะอาดแล้วซับให้แห้ง เก็บใส่ถุงพลาสติก เก็บไว้เป็นเวลา 0, 1, 3, 5 และ 7 วัน เพื่อให้แตกตาจากโคนต้น การฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวทำโดยตัดตาให้มีขนาดชิ้นประมาณ 1 cm^3 นำมาล้างน้ำประปา แล้วแช่ใน ethanol 80% เป็นเวลา 30 วินาที แล้วนำมาแช่ใน NaOCl 0.8% นาน 15 นาที พร้อมทั้งเขย่าตลอดเวลา หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 2 ครั้งๆ ละ 5 นาที ตัดชิ้นส่วนตาให้มีขนาดเล็กลง (ขนาดประมาณ 3 mm^3) แล้วฟอกฆ่าเชื้ออีกครั้งด้วย NaOCl 0.4% นาน 10 นาที หลังจากล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ ก็จะได้ชิ้นส่วนพืชพร้อมที่จะนำไปเพาะเลี้ยง

อาหารเพาะเลี้ยงเป็นอาหารแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ดัดแปลงและใส่น้ำมะพร้าว (150 ml/l) โซเดียมไฮโดรเจนฟอสฟต (170 ml/l) อะดีนีนซัลเฟต (80ml/l) ส่วนสารควบคุมการเติบโตพืช (Plant growth regulator) ที่ใส่ในอาหารมี 2 ชนิด คือ BA 0, 10, 20, 40 หรือ 80 µM และ IAA 0, 1 หรือ 10 µM โดยใส่แบบเดี่ยวและใส่ร่วมกัน แต่พบว่า IAA ไม่มีผลต่อการอยู่รอดและการตอบสนองของชิ้นส่วนพืชและไม่มีปฏิสัมพันธ์กับ BA อีกด้วย

ผลการทดลองพบว่าชิ้นส่วนมีการตอบสนองโดยตามีขนาดใหญ่ขึ้น โดยเฉพาะที่เลี้ยงใน BA 40 µM การเก็บหน่อในถุงพลาสติกเป็นเวลาต่างกัน พบว่าเมื่อเก็บไว้ 7 วันมีการปนเปื้อนของเชื้อน้อยที่สุด (33%) แต่ถ้าเก็บไว้น้อยวันจะมีเชื้อปนเปื้อนมากขึ้น โดยเฉพาะเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงเลยหรือเก็บไว้เพียง 1 วันมีเชื้อปนเปื้อนมากกว่า 90% นอกจากนั้นเมื่อเก็บไว้นาน 7 วัน ยังมีการยืดยาว

ของยอดดีกว่าเก็บไว้น้อยวัน การเกิดยอดจากชิ้นส่วนตาเกิดได้ดีในอาหารที่มี BA 40 μM ซึ่งใช้เวลาในระยะเริ่มต้น (initiation phase) นาน 4-5 เดือน ก่อนย้ายเลี้ยงในอาหารเพิ่มจำนวนยอดในระยะถัดไป (multiplication phase)

สูตรอาหารเพิ่มจำนวนยอดเหมือนกับสูตรในระยะเริ่มต้น แต่ไม่ใส่น้ำมะพร้าว หลังจากย้ายเลี้ยง 6 สัปดาห์พบว่ามีอัตราการเพิ่มจำนวนยอด (proliferation rate) สูงสุดในอาหารที่ใส่ BA 10 μM (เพิ่ม 5 เท่า) เมื่อเพิ่มความเข้มข้น BA เป็น 20 และ 40 μM จะเกิดยอดขนาดเล็กและอยู่ชิดกันมากกว่า ในอาหารที่ไม่ใส่ BA พบว่าไม่มีการเพิ่มจำนวนยอด แต่มีรากเกิดขึ้น 92% จึงชักนำให้เกิดรากในอาหารที่ไม่ใส่ BA เมื่อได้ต้นที่มียอดและรากแล้วนำมาปรับสภาพให้ชินกับสภาพแวดล้อม (acclimatization) ก่อน แล้วย้ายลงดินในกระถาง พบว่าสามารถเลี้ยงได้รอด 90%

2. การทำให้เกิดเป็นต้นจากแคลลัส (plant regeneration from callus)

Nathan และคณะ (1993) รายงานความสำเร็จในการชักนำแคลลัสที่สามารถเกิดเป็นต้นได้ (regenerative callus) และการผลิตต้นเฮลิโคเนียในหลอดทดลอง โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อใช้เทคนิคนี้ในการผลิตสายพันธุ์ใหม่ที่เกิดจาก somaclonal variation และลูกผสมที่เกิดจากการผสมเซลล์โซมาติก เนื่องจากลูกผสมที่เกิดในธรรมชาติมีน้อยมาก เพราะมีสิ่งป้องกันการผสมข้าม (crossability barrier) หรือไม่มีพาหะถ่ายเรณู

ชิ้นส่วนที่นำมาชักนำแคลลัสได้จากยอดที่เลี้ยงในอาหารปลอดเชื้อแล้ว (Nathan *et al.*, 1992) มี 3 แบบคือชิ้นส่วนปลายยอด ชิ้นส่วนโคนยอด (หนา 1 มม.) และชิ้นส่วนโคนกาบใน (leaf base, 4 mm^2) อาหารเพาะเลี้ยงใช้สูตร MS ดัดแปลง (อาหารแข็ง) ใส่ casein enzymatic hydrolysate (CH) 1 g/l และผงถ่านกัมมันต์ (activated charcoal, AC) 0.5 g/l จากการทดลองพบว่าเกิดแคลลัสชนิดที่เรียกว่า fine nodular callus (FN) ได้มากที่สุดจากชิ้นส่วนปลายยอดที่เลี้ยงในอาหารผสม 2, 4-D 80 μM เมื่อเลี้ยงในที่มืด 8 สัปดาห์ ชิ้นส่วนโคนยอดเกิดแคลลัสแบบนี้รองลงมา ส่วนชิ้นส่วนโคนกาบใบเกิดแคลลัสเช่นกัน แต่ไม่ใช่แบบ FN มีลักษณะอ่อนนุ่มและเมื่อย้ายเลี้ยงในอาหารใหม่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและไม่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น

เมื่อย้ายแคลลัสแบบ FN จากปลายยอดไปเลี้ยงในอาหารไม่ใส่ฮอร์โมนพืช (phytohormone) และให้แสง พบว่ามีแคลลัสแบบ nodular (N) เกิดขึ้นด้วย โดยเฉพาะแคลลัสที่ได้จากการชักนำในอาหารมี 2,4-D 80 μM และเมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารใหม่อีกครั้ง ปรากฏว่าเกิดโครงสร้างคล้ายโปรโตคอร์ม (protocorm-like body,PLB) ลักษณะกลม (globular) สีครีม เมื่อย้ายเลี้ยงในอาหารแบบเดิม PLBไม่มีการเจริญเป็นต้น แม้ว่าจะเก็บไว้นานถึง 14 สัปดาห์ พบว่า PLB เกิดเป็นสีเขียวเท่านั้น แต่เมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารไม่มี AC และ CH ปรากฏว่า PLB มีขนาดใหญ่ขึ้น ตรงโคนมีสีเขียวเข้ม ต่อมาเจริญเป็นยอดและเกิดรากหลังจากย้ายเลี้ยง 4-5 สัปดาห์ PLB เจริญเป็นต้นได้ 38% หลังจากให้ต้นพืชปรับสภาพ แล้วนำออกปลูกในกระถางได้ ระยะเวลาตั้งแต่ชักนำ

แคลลัสจนย้ายต้นออกปลูกประมาณ 10 เดือน ดังนั้นภายใน 1 ปีจะสามารถผลิตต้นได้มากกว่า 15,000 ต้นจากเพียง 1 ปลายยอด

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ใกล้ชิดเฮลิโคเนีย

พืชหลายชนิดมีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการใกล้ชิดเฮลิโคเนีย เช่น ปักษาสวรรค์หรือ bird-of-paradise (*Strelitzia reginae*) ขิงแดง และขิงชมพู (*Alpinia purpurata*) และกล้วยหลายชนิด (*Musa* spp.) พืชเหล่านี้เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ทั้งในรูปของไม้ประดับ ไม้ตัดดอก และพืชอาหาร ดังนั้นจึงมีการใช้เทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อขยายพันธุ์ ให้ได้พืชมีลักษณะตรงตามพันธุ์จำนวนมาก นอกจากนี้ยังอาจใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ได้อีกด้วย

1. ปักษาสวรรค์ (*Strelitzia reginae*)

การขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงปลายยอด ข้อ และก้านช่อดอกในอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลง โดยลดความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักเหลือครึ่งเดียว ใส่ IBA (indolebutyric acid) 2.5 mg/l, NAA (naphthaleneacetic acid) 1.0 mg/l, kinetin 5 mg/l และ 2,4-D 0.5 mg/l (Ziv and Halevy, 1983) แต่เนื่องจากชิ้นส่วนที่นำมาเลี้ยงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลดำ (oxidative browning) และปล่อยสารสีดำในอาหาร ดังนั้นจึงทดลองแช่ชิ้นส่วนในสารลดการเปลี่ยนเป็นสีดำ (antioxidant) เป็นเวลาต่างกัน สารลดการเปลี่ยนเป็นสีดำประกอบด้วยอาหารเหลว MS ใส่กรดซิตริก 150mg/l , กรดแอสคอบิก 100 mg/l, chloramphenicol และ oxytetracyclin อย่างละ 5 mg/l และ benomyl (ยากันรา) 25 mg/l เพื่อป้องกันการเกิดสีน้ำตาลดำ จึงเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหาร 3 ชนิดคือ อาหารเหลวใส่ dithiothreitol (DTT) 0.04% อาหารแข็งใส่ AC (ผงถ่านกัมมันต์) 1% และอาหารแข็งใส่ phloroglucinol 150 mg/l เลี้ยงในที่มืด 10 วัน เพื่อลดการปล่อยสารสีดำ แล้วจึงให้แสง

การแช่ในสารป้องกันการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลดำ 24 ชั่วโมงก่อนเพาะเลี้ยงป้องกันได้ดีที่สุด เมื่อแช่นานขึ้น (48 และ 72 ชั่วโมง) พบว่าประสิทธิภาพลดลงและยังมีการปนเปื้อนของเชื้อ ก้านช่อดอกเกิดเฉพาะแคลลัส ส่วนข้อและปลายยอดมีการเจริญของตา โดยเฉพาะในอาหารที่ใส่ AC ได้ผลดีกว่าอาหารเหลวใส่ DTT ส่วนอาหารใส่ phloroglucinol ควรทำให้แตกตาได้ดี แต่ปรากฏว่าได้ผลตรงกันข้ามและตายไปในที่สุด เพื่อกระตุ้นการเจริญของยอด จึงย้ายชิ้นส่วนที่แตกตาหลังจากเลี้ยงในอาหารที่ใส่ AC 3 สัปดาห์ไปเลี้ยงในอาหารเหลวใส่ BA 1 mg/l และ IBA 5 mg/l ปรากฏว่ามีการยืดยาวของตายาว 3 ซม. หลังจากย้ายเลี้ยง 40 วัน หลังจากย้ายออกปลูก ยอดยืดยาว เป็นต้นสมบูรณ์

2. ขิงชมพู (pink ginger, *Alpinia purpurata*)

โดยทั่วไปการขยายพันธุ์ขิงแดงและขิงชมพู ทำได้โดยการแยกกอและโดยใช้หน่อที่เกิดบนช่อดอกแก่ (aerial offshoot) แต่มีลูกผสมพันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะดี แต่ไม่สร้างหน่อบนช่อดอก การขยายพันธุ์จึงทำได้ช้า เพราะใช้วิธีการแยกกอเท่านั้น Chang และ Criley (1993) จึงนำตาข้าง

บนช่อดอกมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ลดความเข้มข้นเหลือครึ่งเดียว และใส่น้ำมะพร้าว 15% ปรากฏว่าตาที่เลี้ยงบนอาหารแข็งไม่มีการเจริญ ส่วนตาในอาหารเหลวมีการแตกตายืดยาว 1 ซม. ต่อมาเมื่อย้ายไปเลี้ยงบนอาหารแข็งใส่ BA 4.4 μM ตายืดยาวเป็นยอด หลังจากนั้นย้ายไปเลี้ยงบนอาหารใหม่ให้เกิดยอดเพิ่มจากตาข้าง พบว่าได้ประมาณ 5 ยอดต่อชิ้นส่วนที่นำมาเลี้ยงภายใน 4 สัปดาห์ ยอดเกิดรากเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งไม่ใส่ BA และย้ายออกปลูกได้หลังจากให้ต้นปรับสภาพต้นให้ดอกมีลักษณะเหมือนต้นแม่ ซึ่งใช้เวลาตั้งแต่เริ่มเพาะเลี้ยงจนให้ดอกประมาณ 20-30 เดือน

3. กล้วย (*Musa* spp.)

กล้วยมี 2 ชนิด คือชนิดรับประทานผลสุก (desert banana) และชนิดที่ใช้ผลดิบทำอาหาร (cooking banana หรือ plantain) การแบ่งชนิดโดยใช้จีโนม (genome) ซึ่งมี 2 แบบคือจีโนม A (จาก *M. acuminata*) และจีโนม B (จาก *M. Bulbisiana*) ในธรรมชาติกล้วยอาจมีโครโมโซม 2 ชุด (diploid) หรือ 3 ชุด (triploid) จึงทำให้กล้วยหลายชนิดไม่มีเมล็ด โดยเฉพาะพันธุ์ปลูกเป็นการค้า การขยายพันธุ์จึงทำได้โดยการแยกหน่อไปปลูกเท่านั้น ดังนั้นจึงมีความพยายามขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยเฉพาะการทำให้ต้นที่ได้ปลอดจากไวรัสด้วย Krikorian และ Cronauer (1984) ได้รวบรวมงานวิจัยการใช้เทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับกล้วยตั้งแต่เริ่มแรกและสรุปวิธีการที่ใช้ได้ผลในการเพาะเลี้ยงปลายยอดที่มีใบแรกเกิด (leaf primordia) 1-2 ใบ โดยเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ใส่น้ำมะพร้าว 15% (ช่วยกระตุ้นยอดได้เล็กน้อย) และ BAP 22.0 μM ในที่มีแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เมื่อเกิดยอดขนาด 1 ซม. ย้ายไปเลี้ยงบนอาหารแข็งไม่ใส่น้ำมะพร้าว จะเกิดยอดเดี่ยวขนาดสูง 3 ซม. นำยอดมาผ่าครึ่งตามยาว แล้ววางตั้งส่วนยอดขึ้นบนอาหารแข็งสูตรเดิม หลังจากเลี้ยง 2-3 สัปดาห์จะเกิดยอดจำนวนมาก (multiple shoot) ต้องตัดย้ายเลี้ยงทุก 2-3 สัปดาห์เพื่อเพิ่มจำนวนยอด การกระตุ้นให้เกิดรากทำโดยเลี้ยงยอดเดี่ยวบนอาหารแข็งใส่ผงถ่าน 0.25% (w/v) ก็จะได้ต้นที่สมบูรณ์ และย้ายออกปลูกได้

ในประเทศไทยได้นำเทคนิคการขยายพันธุ์จากปลายยอดนี้มาใช้ในการเพิ่มจำนวนต้นของกล้วยหอมทอง (*M. sapientum* Linn.) (บุญยืน กิจวิจารณ์ และรัชนี ฉวีราช, 2533) และกล้วยไข่ (AA group) (สุภาพร แก้วสมพงษ์ และคณะ, 2535) โดยดัดแปลงวิธีการบางส่วน พบว่าสามารถเพิ่มจำนวนยอดได้ในอาหาร MS ที่มี BAP 5 mg/l ทั้งอาหารแข็งและอาหารเหลว การย้ายเลี้ยงเพื่อเพิ่มจำนวนยอดทำทุก 4-6 สัปดาห์ ในอาหารแข็งมีการเกิดรากและได้ต้นที่สมบูรณ์สามารถย้ายออกปลูกได้

การปรับปรุงพันธุ์กล้วยโดยวิธีปกติจะทำได้ยาก เนื่องจากกล้วยหลายพันธุ์จะเป็นหมันและมีโครโมโซมหลายชุด (polyploid) ดังนั้นจึงต้องใช้เทคนิคในการทำให้เกิดมิวเทชั่นในหลอดทดลอง แล้วทำให้เกิดเป็นต้นจากแต่ละเซลล์ ซึ่งเป็น mutant cell หรืออาจทำให้เกิดต้นหลังจากการทำ genetic transformation กระบวนการทำให้เกิดต้นอาจเป็นกระบวนการ somatic embryogenesis

หรือ organogenesis ซึ่งต้องเป็นกระบวนการที่มีประสิทธิภาพทำให้เกิดต้นได้จำนวนมาก แต่พบว่าการเกิด somatic embryo หยุดชะงักอยู่ในระยะใดระยะหนึ่ง ไม่สามารถเจริญจนกลายเป็นต้นได้ ดังนั้น Lee และคณะ (1997) จึงศึกษาการเกิด somatic embryo จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเหง้ากล้วยพันธุ์ "Grand Nain" ในอาหารต่างกัน 3 ชนิด พบว่ามีการเกิดทั้งเอมบริโอ (E) และ embryogenic callus (EC) หลังจากเพาะเลี้ยง 2 เดือนในอาหารทั้ง 3 ชนิดแตกต่างกัน โดยอาหาร SH (Schenk and Hildebrandt, 1972) ผสม Dicamba 30 μM ทำให้เกิด EC และ E มากกว่าอีก 2 ชนิด EC เกิดจากเนื้อเยื่อลำเลียง (vascular tissue) ส่วน non-embryogenic callus เกิดจากเนื้อเยื่อชั้นคอร์เทกซ์ (cortex tissue) เอมบริโอที่ได้ไม่มีการเจริญต่อหลังจากเพาะเลี้ยง 2 เดือน จึงย้ายมาเลี้ยงในอาหารเหลว MS ธาตุอาหารหลักเหลือครึ่งเดียว ใส่ BA 20 μM หลังจาก 3 สัปดาห์บางเอมบริโอมียอดแรกเกิด (plumule) สีเขียวและรากสีขาว แต่ไม่เจริญต่อจนเป็นต้น จากการตัดเนื้อเยื่อดูจุดกำเนิดของเอมบริโอไม่พบส่วนที่คล้าย suspensor แสดงว่าไม่ได้เกิดมาจากเซลล์เดียว แต่น่าจะเกิดจากกลุ่มเซลล์ นอกจากการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนเหง้าแล้ว ยังมีความพยายามชักนำแคลลัสจากผลทั้งผลอ่อนและผลแก่ (Krikorian and Cronauer, 1984) แต่แคลลัสที่ได้โตช้าและไม่สามารถชักนำให้เกิดต้นได้