บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ชีววิทยาของกฤษณา

กฤษณาหรือไม้หอมเป็นไม้ในสกุล Aquilaria วงศ์ Thymelaeaceae พบในทางตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศอินเดีย พม่า และครอบคลุมถึงเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ถึงประเทศฟิลิปปินส์ (Baruah และคณะ, 1982) ไม้ในสกุล Aquilaria นี้มีด้วยกันทั้งหมด 15 ชนิด (Whitmore, 1973)ชอบขึ้นในป่าดิบชื้น สามารถขึ้นได้สูงถึง 1,100 เมตร หรือมากกว่าจากระดับน้ำทะเลปานกลาง เช่น พบที่ยอดเขาเขียวบริเวณอุทยานแห่งชาติเขาใหญ่ โดยทั่วไปมักพบกฤษณาปนกับพรรณไม้อื่น เช่น ยาง ยมหอม ยมหิน หว้า ก่อเดือย และก่อชนิดอื่น ๆ สีเสียดเทศ กระโดงแดง และอื่น ๆ(สมคิด, 2525) เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงใหญ่ มีใบแบบใบเดี่ยวเรียงตัวแบบสลับ ลักษณะใบรูปไข่หรือรูปร่างยาวขอบขนาน ปลายใบเรียวแหลม ฐานใบแหลม ใบกว้าง 2.5 – 3.5 เซนติเมตร ยาว 7-9 เซนติเมตร ใบแก่เกลี้ยงเป็นมัน ใบอ่อนมีขนสั้นแวววคล้ายไหมตามขอบใบ เส้นใบ ก้านใบ ตาอ่อน และกิ่งอ่อนปกคลุมไปด้วยขนลักษณะเดียวกัน ก้านใบยาว 3-5 มิลลิเมตร เส้นใบ ที่ออกมาจากเส้นกลางใบ มี 2 ขนาด ขนาดใหญ่ทำมุม 45-60 องศากับเส้นกลางใบ เส้นใบมีขนาดเล็กผ่อย เกิดขนานกันเกือบตั้งฉากกับเส้นกลางใบ และตัดทำมุมกับเส้นใบขนาดใหญ่ ต้นมีเปลือกนอกสีเทาขาวหรือสีน้ำตาลอ่อน ๆ เปลือกแตกเป็นร่องเล็กตื้นและแตกถี่ขนานกันไปตามแนวยาวของลำต้น เปลือกในสีขาวถึงเหลืองอ่อน หนาประมาณ 1-5 มิลลิเมตร เปลือกเหนียวสามารถลอกออกได้เป็นแผ่นโดยไม่ขาดออกจากกัน

ดอกเป็นแบบสมบูรณ์เพศ เกิดตามง่ามใบหรือปลายยอด แบบ axillary หรือ terminal umbels ก้านดอกสั้น ดอกสีขาว ไม่มีกลีบดอก กลีบเลี้ยง มี 5 กลีบ เชื่อมติดกันที่โคน ที่ปลายแยกออกเป็น 5 แฉก แบบ campanulate ปกคลุมด้วยขนสั้นแบบ silky หรือ pubescent ที่โคนแฉกของกลีบเลี้ยงมีเกล็ด 10 เกล็ด (2 เกล็ด บนกลีบเลี้ยงแต่ละอัน) แต่ละเกล็ดปกคลุมด้วยขนยาว Whitmore (1973) กล่าวว่าเกล็ดเหล่านี้คือกลีบดอก ระหว่างเกล็ดหรือกลีบดอกยังมีเกล็ดอีกชนิดหนึ่งที่มีลักษณะเกลี้ยง ปลายแหลมสีดำ เกิดระหว่างกลีบดอก เกสรตัวผู้ 10 อัน ก้านเกสรตัวผู้ สั้น รังไข่อยู่เหนือส่วนอื่น ๆ ของดอก ไม่มีก้าน และปกคลุมด้วยขนคล้ายไหม รังไข่มี 2 ช่อง ก้านเกสรตัวเมีย สั้น ยอดเกสรตัวเมีย ใหญ่แบบ capitate ผลเป็นแบบ capsule รูปร่างคล้ายไข่กลับ หรือหอกกลับ ตั้งอยู่บนฐานของกลีบรองกลีบดอกที่ไม่หลุดร่วง ผลยาวประมาณ 2.5 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1.5 - 2.0 เซนติเมตร เมล็ดมี 1 หรือ 2

เมล็ด แบบ ovoid ขนาดของเมล็ดยาว 5-6 มิลลิเมตร มีส่วนฐานที่สดและนุ่น บางครั้งขยายออกไปเป็นส่วนหาง เมล็ดมีส่วนของ funiculus ที่เป็นเส้นขนาดเล็กและยาวเชื่อมต่อกับผล เมล็ดสีแดงส้มหรือดำ ปกคลุมไปด้วยขนสั้นและนิ่ม สีแดง หรือน้ำตาลแดง embryo แบบ inverse ไม่มี perisperm ผลแก่แตกออกเป็น 2 ซีก (Drurg, 1969 ; Ridlev, 1969 ; Roxburgh, 1971 ; Whitmore, 1973)

ลักษณะของเนื้อไม้

ลักษณะของเนื้อไม้กฤษณาจะมีทั้งเนื้อไม้ปกติ และเนื้อไม้หอมที่มีน้ำมัน ซึ่งไทยรู้จักจำแนกความแตกต่างมาแต่โบราณแล้ว ดังกล่าวถึงในมหาชาติคำหลวงสมัยอยุธยาตอนต้น พ.ศ.2025 ว่ามีทั้งกฤษณาขาว (เสตครู) และกฤษณาดำ (ตระคัร) ซึ่งมีเนื้อไม้หอม เนื้อไม้ ปกติจะมีสีขาวนวลเมื่อตัดใหม่ ๆ ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน เสี้ยนจะตรง เนื้อหยาบปานกลาง เลื่อยผ่าได้ง่าย ขัดชักเงาไม่ได้ดี ไม่ค่อยทนทาน อยู่ในน้ำ จะทนทานพอประมาณ เมื่อแปรรูปเสร็จแล้ว ควรรีบกองผึ่งให้แห้งโดยเร็ว ในการผึ่งจะมีการปริแตกได้ง่าย และมักจะถูกเห็ดราย้อมสีเกาะ ทำให้ไม้เสียสี (กรมป่าไม้, 2486)ส่วนเนื้อไม้หอมที่มีน้ำมันกฤษณา จะมีสีดำ หนัก และจมน้ำ คุณภาพของเนื้อไม้ ขึ้นอยู่กับการสะสมของน้ำมันกฤษณาภายในเซลล์ต่าง ๆ ของเนื้อไม้ องค์ประกอบทางด้านเคมี ของน้ำมันหอมระเหยจากกฤษณา ประกอบด้วยสารที่เป็นยางเหนียว (Resin) อยู่มาก สารที่ทำให้เกิดกลิ่นหอม คือ Sesquiterpene alcohol มีหลายชนิด โดยเฉพาะ agarospirol (ปราโมทย์, 2540)

คุณภาพของกฤษณาในประเทศไทย ได้แบ่งเป็น 4 เกรด ดังนี้

เกรด 1 ชาวบ้านเรียกว่า ไม้ลูกแก่น มีน้ำมันกฤษณาสะสมอยู่เป็นจำนวนมาก กระจายอยู่ทั่วเนื้อไม้ ทำให้มีสีดำ มีราคาแพงมากประมาณ 15,000-20,000 บาทต่อกิโลกรัมมีน้ำหนักเป็น1.01ท่าของน้ำหนักกว่าน้ำจึงจมน้ำ

เกรด 2 มีกลิ่นหอมและน้ำมันสะสมรองจากเกรด 1 สีจะจางออกทางน้ำตาล มีราคาประมาณ 8,000-10,000 บาทต่อกิโลกรัม มีน้ำหนักเบากว่าน้ำ

เกรด 3 มีกลิ่นหอมและน้ำมันสะสมรองจากเกรด 2 มีราคาประมาณ 1,000 - 1,500 บาทต่อกิโลกรัม มีน้ำหนักเป็น 0.62 เท่าของน้ำ เบากว่าน้ำ จึงลอยน้ำ

เกรด 4 มีกลิ่นหอมและน้ำมันสะสมอยู่น้อย ใช้กลั่นน้ำมันหอมระเหย มีราคาประมาณ 400-600 บาทต่อกิโลกรัม มีน้ำหนักประมาณ 0.39 เท่าของน้ำ จึงลอยน้ำ ชนิดนี้ชาวบ้านจะเรียกว่าไม้ปากส่วนเนื้อไม้ปกติที่ไม่มีกฤษณาสะสมอยู่ จะมีน้ำหนักเพียง 0.3 เท่าของน้ำ(สมคิด,2534)

ต้นไม้สกุล Aquilaria ที่พบในประเทศไทยมีด้วยกัน 3 ชนิด คือ *A. crassna* *A.subintegra* และ *A. malaccensis* พบเฉพาะภาคใต้ที่มีความชุ่มชื้น (เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ระนอง กระบี่ ตรัง พัทลุง ยะลา โดยเฉพาะที่เขาช่อง จังหวัดตรัง) มักพบกฤษณาต้นใหญ่ที่สุดถูกโค่นเหลือแต่ตอทิ้งไว้เป็นจำนวนมาก

การขยายพันธุ์กฤษณา

1. การขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ในธรรมชาติบริเวณที่เคยมีต้นไม้หอมหรือกฤษณาขึ้นอยู่และต่อมาถูกตัดโค่นลง จะพบว่ามีลูกไม้ชนิดนี้ขึ้นอยู่จำนวนมาก แต่ปัญหาในการสืบพันธุ์ตามธรรมชาติของพรรณไม้ชนิดนี้ก็มีมาก เช่น สัตว์ชอบกินผลกฤษณา ซึ่งจะทำให้ผลกฤษณาหล่นก่อนที่จะแก่ นอกจากนี้เชื้อรายังชอบขึ้นทำลายส่วนของผลและเมล็ดที่หล่นตามพื้น ซึ่งจะเป็นข้อจำกัดในการสืบพันธุ์ตามธรรมชาติของกฤษณา Siripatanadilok และคณะ (1991) รายงานว่า การนำเมล็ดของกฤษณา (*Aquilaria crassna*) มาเพาะในทรายในกระบะพ่นหมอกเมล็ดจะงอกภายใน 2 สัปดาห์ โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกถึง 98 เปอร์เซ็นต์ แต่ต้นกล้าจะอ่อนแอต่อโรคโคนเน่า

2. การขยายพันธุ์โดยการปักชำ Siripatanadilok และคณะ (1991) ได้ทดลองปักชำกิ่งที่ตัดจากต้นที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้ว โดยนำกิ่งที่มีขนาดต่าง ๆ กันจนถึงกิ่งที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร มาจุ่มในสารละลาย NAA และ IBA ความเข้มข้น 0 25 50 - และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ กิ่งที่มีขนาดใหญ่จะมีการแตกยอดใหม่ แต่ไม่เกิดราก และตายไปในเวลา 2 เดือน เมื่อทดลองใช้กิ่งจากต้นกล้าอายุ 6 เดือน ตัดกิ่งและลำต้นเป็นท่อน มี 2 ใบ 2 ข้อ แช่ในสารละลาย NAA และ IBA ความเข้มข้น 0 25 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 24 ชั่วโมง นำไปปักชำในทรายในกระบะพ่นหมอกจะออกรากหลังจากปักชำ 6 สัปดาห์ การใช้ NAA สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีกว่า IBA โดย NAA ที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดรากได้ถึง 76 เปอร์เซ็นต์ และให้จำนวนรากต่อกิ่งมากกว่าแต่รากจะสั้น

3. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**

ในปัจจุบันเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเจริญก้าวหน้าขึ้นอย่างรวดเร็ว จากความสำเร็จในการเลี้ยงส่วนของอวัยวะพืช เนื้อเยื่อ เซลล์ รวมทั้งโปรโตพลาสต์ ได้มีการนำเอาเทคนิคนี้ไปใช้ประโยชน์ในหลาย ๆ ด้าน ซึ่ง Murashige (1974) ได้กล่าวถึงประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชว่ามี 4 สาขาด้วยกัน คือ 1) การผลิตยาและสารสกัดจากธรรมชาติอื่น ๆ โดยการเลี้ยงเซลล์ หรืออวัยวะที่สามารถผลิตสารได้ 2) การปรับปรุงพันธุ์พืช เช่น การเพาะเลี้ยงเอมบริโอ การผลิตพืช haploid การรวมโปรโตพลาสต์ การสร้าง somatic hybrid และ

การถ่ายยีนในพืชชั้นสูง 3) การผลิตพืชปลอดโรค และการเก็บรักษาพันธุ์พืช และ 4) การขยายพันธุ์พืชที่มีลักษณะที่ดีให้ได้จำนวนมากในเวลาอันรวดเร็ว

ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมี 3 ขั้นตอน คือ

1. การเตรียมเนื้อเยื่อพืชให้ปราศจากโรค นำมาเลี้ยงให้มีชีวิตอยู่รอด สามารถเจริญเติบโตและพัฒนาต่อไปได้บนอาหารสังเคราะห์

2. การเพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อและชักนำให้เกิดต้นจำนวนมาก ซึ่งในขั้นตอนการเพิ่มปริมาณต้นนี้อาจเกิดโดยวิธีการชักนำให้เกิดอวัยวะ การเกิดเอมบริโอ การชักนำให้เกิดยอด หรือในบางกรณีอาจผ่านกระบวนการเกิดแคลลัส ในขั้นตอนนี้ต้องการสารควบคุมการเจริญเติบโต และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม

3. การเตรียมต้นพืชให้พร้อมที่จะย้ายออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอก โดยการชักนำให้เกิดราก และการเตรียมต้นพืชให้แข็งแรงก่อนการย้ายปลูก

ความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างที่ควบคุมการเจริญเติบโต และการพัฒนาของเนื้อเยื่อพืช (ไพบูลย์, 2524)

บทบาทของสารควบคุมการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สารควบคุมการเจริญเติบโตทั้งที่เป็นฮอร์โมนที่พืชสังเคราะห์ขึ้นในธรรมชาติ เช่น IAA และสารสังเคราะห์ มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาของพืช สารควบคุมการเจริญเติบโตแต่ละชนิดมีผลต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาแตกต่างกันออกไปในพืชแต่ละชนิด ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดและความเข้มข้นของสาร มีรายงานมากมายเกี่ยวกับการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในการชักนำให้เกิดแคลลัส การเกิดยอดและราก โดยเฉพาะสารในกลุ่มออกซินและไซโตไคนิน

ไซโตไคนิน

สารกลุ่มนี้กระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช ส่งเสริมการแบ่งเซลล์ การขยายขนาดของเซลล์ กระตุ้นการเกิดยอดแต่ยับยั้งการเกิดราก ไซโตไคนินส่งเสริมการแตกตาข้าง โดยมีผลลบล้างผลของออกซินที่เกี่ยวข้องกับ apical dominance การใช้ไซโตไคนินร่วมกับออกซินจะชักนำให้เกิดแคลลัส ไซโตไคนินถูกสร้างที่บริเวณปลายราก แล้วเคลื่อนย้ายไปยังใบและส่วนต่าง ๆ ของพืชทางท่อน้ำ

ไซโตไคนิน เป็นอนุพันธุ์ของอดีนิน (Adenine derivative) ที่สังเคราะห์ ได้แก่ ไคเนติน และที่พบในธรรมชาติ มีมากในน้ำมะพร้าวและเป็นชนิดแรกที่พบเมื่อ ค.ศ. 1955 และ ซีเอติน มีอยู่มากในข้าวโพดอ่อน ๆ แหล่งที่สร้างอยู่ปลายรากและเมล็ดที่กำลังพัฒนา แล้วลำเลียงไปยังลำต้น โดยผ่านทางท่อน้ำ อิทธิพลของไซโตไคนิน มีดังนี้

1) ทำให้เซลล์แบ่งตัว ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เมื่อมีออกซินอยู่ด้วย ในสัดส่วนที่เหมาะสม

2) กระตุ้นการเจริญของตาข้าง เพิ่มตาให้มากขึ้นอย่างรวดเร็ว เหมาะในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อให้เกิดตากระจุกจำนวนมาก แต่ไม่เกิดราก

3) ชะลอการแก่ เช่น ชะลอการแก่ของพืช ทำให้ใบพืชคงสภาพเขียวสดอยู่ได้นานเป็นการยืดอายุของใบทำให้ใบร่วงช้าลง

4) สร้างคลอโรพลาสต์ ทำให้ใบเขียวขึ้น

ตัวอย่างไซโตไคนิน ได้แก่ ซีเอติน ไคเนติน บีเอพี 2 ไอพี พีบีเอ และ ไทไดอะซูรอน

ไทไดอะซูรอน (Thidiazuron หรือ 1-phenyl-3-(1,2,3-thidiazol-5-yl) น้ำหนักโมเลกุล 220.25

Huetteman และ Preece (1993) รายงานว่า TDZ (thidiazuron) เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินที่มีความสำคัญในการเพาะเลี้ยงไม้เนื้อแข็ง TDZ มีผลยับยั้งการยืดยาวของยอด แต่ในบางกรณีพบว่าการใช้ TDZ ความเข้มข้นต่ำเติมในอาหารส่งผลให้ยอดยืดยาวได้ดีขึ้น การใช้ TDZ ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่นทำให้ประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูงกว่าการใช้ TDZ เพียงอย่างเดียว

BA (benzyladenine) เป็นสารในกลุ่มไซโตไคนินที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการกระตุ้นการเกิดยอด เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโต ที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการแบ่งเซลล์ การขยายขนาดของเซลล์ กระตุ้นการเกิดยอดแต่ยับยั้งการเกิดราก ส่งเสริมการแตกตาข้างมีการใช้กันอย่างกว้างขวางในการขยายพันธุ์พืชโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,2541)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

มีการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอด ตาข้าง และใบอ่อนของกฤษณาในสภาพปลอดเชื้อ โดยทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในการเพาะเลี้ยงปลายยอดและตาข้างของกฤษณา 2 ชนิด *Aquilaria crassna* และ *A. malaccensis* ในอาหารสูตร Woody Plant Medium (WPM) และสูตร MS ดัดแปลง โดยลดความเข้มข้นของ NO_3 ลงครึ่งหนึ่ง ที่เติม BA, 2iP หรือ kinetin ที่ระดับความเข้มข้น 0 0.25

0.5 1 ,2 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ปลายยอดและตาข้างของกฤษณาเจริญเติบโตได้ดีในอาหารทั้ง 2 สูตร และ BA ให้ผลดีที่สุดในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก kinetin ให้ผลรองลงมา ส่วน 2iP ไม่มีผลในการเพิ่มจำนวนยอด(พิมล,2538) และรายงานการทดลองการเพาะเลี้ยงส่วนตาข้างของต้นกระทิง (*Calophyllum inophyllum*) ในอาหารสูตร Murashige และ Skoog พบว่าในอาหารที่เติม BAP ความเข้มข้น 2-5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดตายอดจำนวนมากและตายอดเจริญเติบโตได้ดีที่สุดที่ BA ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร(Sing Kong และ Rao,1981) รายงานการศึกษา เลี้ยงปลายยอด *Heuchera sanguinea* ในอาหารสูตร Woody Plant ดัดแปลง พบว่าการเติม BA และ Kinetin ให้ผลดีที่สุดในการชักนำให้มีการเจริญของตาข้าง โดย BA ที่ระดับความเข้มข้น 2 4 8 และ 16 uM หรือ kinetin 16 23 และ 64 uM ให้จำนวนยอดมากที่สุด(Stapfer และ Heuser,1986)

รายงานการทดลองการเลี้ยงตาข้างของ Shumard oak ในอาหารเหลวสูตร Woody plant ที่เติม BA 8.9 uM (2 .0 มิลลิกรัมต่อลิตร) สามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากที่สุด ส่วนการเติม 2iP ไม่สามารถชักนำให้เกิดยอด (Bennett และ Davies,1986) และมีการศึกษาเพิ่มเติม พบว่า สามารถเพิ่มจำนวนยอดได้ (Pailty D'Souza,1986) จากการเลี้ยงส่วนตาข้างของ *Lagerstroemia flos-reginae* Retz. ในระยะต้นอ่อนและต้นที่โตเต็มที่แล้วในอาหาร สูตร MS ที่เติม BA 7.5-20 มิลลิกรัมต่อลิตร และสามารถชักนำให้เกิดรากได้ในอาหารที่เติม IBA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร รายงานการเพาะเลี้ยงตาข้างของฝรั่งพันธุ์ Chittidar ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีการแตกตาขึ้นมาภายใน 3-4 สัปดาห์หลังจากย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตรเดียวกันเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ยอดจะยาว 3-5 เซนติเมตร มี 4-6 ข้อ ตัดแบ่งเป็นข้อ ๆ เลี้ยงในอาหารสูตรเดิม การย้ายเลี้ยงซ้ำ ๆ สามารถเพิ่มจำนวนยอดได้ 3-4 เท่า (Ami และ Jaiswal,1988) การเพาะเลี้ยงปลายยอดของ endod *(Phytolacca dodecandra)* ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.44 uM จะแตกยอดใหม่โดยเฉลี่ย 3.1 ยอด ส่วนการเลี้ยงตาข้างในอาหารที่เติม BA 0.44 uM ร่วมกับ GA_3 0.27 uM เกิดยอดโดยเฉลี่ย 4.7 ยอด (Demeke และ Hughes,1990) จากการศึกษาเพิ่มเติมโดยการชักนำให้เกิดแคลลัสจากใบและลำต้นของ *Eucalyptus tereticornis* BM. และสามารถชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้นได้ โดยชักนำให้เกิดแคลลัสในอาหารสูตร B5 ที่เติม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 3 หรือ 5 มิลลิกรัมต่อลิตรในที่มืด และชักนำให้เกิดต้นในอาหารสูตร Woody Plant ดัดแปลง ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Polyvinylpyrrolidone 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำกะทิ (coconut milk) 10 เปอร์เซ็นต์ (v/v) และการเลี้ยง hypocotyl ของต้นกล้าที่มีอายุ 4-6 สัปดาห์ในอาหารสูตร B5

ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเกิดกลุ่มของยอดได้โดยตรง (Subbaiah และ คณะ ,1991) การเพาะเลี้ยงตาข้างของ *Alberta magna* ในอาหารเหลวสูตร Anderson ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะแตกตาใหม่อย่างรวดเร็ว และเมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหาร MS ที่ลดความเข้มข้นของธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่ง ที่เติมและไม่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 8 สัปดาห์ ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่เติม BA จะเกิดยอดได้ถึง 34 ยอด เมื่อเทียบกับชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มี BA ที่ให้ยอดเพียง 7 ยอด (Ben-Jaacov และคณะ ,1991) การเลี้ยงปลายยอดของ *Artemisia granatensis* ในอาหารแข็งสูตร MS การเติม BA 0.44 uM สามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก การลดความเข้มข้นของ BA เป็น 0.22 uM ช่วยลดอาการฉ่ำน้ำและให้ยอดที่แข็งแรง ยอดที่แตกขึ้นใหม่มีความยาวมากที่สุดในอาหารที่ไม่มี BA (Clemente และ คณะ ,1991) การเพาะเลี้ยงตาข้างของ muscadine grape ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 5 10 20 และ 40 uM พบว่า BA ที่ระดับความเข้มข้น 10 uM สามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากที่สุด และที่ BA ระดับความเข้มข้นสูง ยอดไม่เจริญเติบโตและมีอัตราการตายสูง (Lee และ Wetzstein,1990) การเลี้ยงปลายยอดเงาะ พบว่ายอดมีการเจริญเติบโตดีเมื่อเลี้ยงในอาหาร MS ที่ลดความเข้มข้นของธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่ง เติมน้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ และเติม BA หรือ kinetin 0-10 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเลี้ยงปลายยอด 15-30 วัน สามารถเกิดยอดจำนวนมาก เมื่อเลี้ยงในอาหาร MS ที่ลดความเข้มข้นของธาตุอาหารลงครึ่งหนึ่ง น้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ BA 1 .0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร(Zamora และคณะ ,1988) การศึกษาการเลี้ยงปลายยอดพลับจีนจากต้นกล้าอายุ 1 เดือน ในอาหาร WPM ดัดแปลง พบว่า BA 0.44 uM ช่วยส่งเสริมการเกิดยอด แต่ BA ความเข้มข้น 4.44 และ 44.4 uM ยับยั้งการเกิดยอดและส่งเสริมการเจริญของแคลลัส (Qi-guang ,1986) และรายงานการศึกษาการเพาะเลี้ยงส่วนปลายยอดและตาข้างของขนุน ในอาหารสูตร WPM ที่เติม BA 0-20 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า เนื้อเยื่อส่วนปลายยอดเกิดยอดมากที่สุดที่ BA ระดับความเข้มข้น 18 มิลลิกรัมต่อลิตร และความยาวของยอดมากที่สุดที่ BA ระดับ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนเนื้อเยื่อจากตาข้างเกิดยอดจำนวนมากที่สุดที่ BA ระดับความเข้มข้น 14.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และยอดของขนุนยาวที่สุดที่ BA ระดับความเข้มข้น 0.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (ธวัชชัย,2532)

รายงานการวางเลี้ยงชิ้นส่วนต่าง ๆ ของต้นกล้ามังคุดในหลอดทดลองบนอาหารสูตร MS เติม BA และ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าใบอ่อนสีม่วงมีการสร้างเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสได้สูงที่สุด รองลงมาเป็นใบอ่อนสีเขียว ก้านใบและเมล็ดตามลำดับ การใช้ BA กับ

TDZ ความเข้มข้นเท่ากันคือ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำการสร้างแคลลัสได้ดีที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนที่ได้จากเมล็ดพันธุ์ ในอาหารเหลวสูตร 1/2 MS เติม NAA 0.06 มิลลิกรัมต่อลิตร TDZ 0.03 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถชักนำการสร้างใบอ่อนสีม่วงได้ดี เมล็ดที่ผ่านการตัดแยกยอดแล้วย้ายไปวางเลี้ยงในอาหารใหม่สูตรเดิม สามารถชักนำการสร้างแคลลัสได้ดีกว่าเมล็ดที่ไม่ผ่านการตัดแยกยอด เมื่อเปรียบเทียบผลของ BA และ TDZ ต่อการสร้างใบอ่อนสีม่วงและการสร้างแคลลัส พบว่า TDZ มีประสิทธิภาพสูงกว่า BA อย่างไรก็ตาม การใช้ TDZ และ BA มีผลใกล้เคียงกับการใช้ TDZ เพียงอย่างเดียว และเมื่อทดลองเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสที่ชักนำได้จากใบอ่อนสีม่วง สามารถเติบโตเพิ่มปริมาณได้ดีเมื่อวางเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติม PVP (polyvinylpyrrolidone) 500 มิลลิกรัมต่อลิตร BA และ TDZ ความเข้มข้นเท่ากันอย่างละ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทดลองย้ายเอ็มบริโอเจนิคแคลลัสไปวางเลี้ยงในอาหารสูตร WPM เติม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้มีการพัฒนาของใบคู่แรกและยอดยืดยาวขึ้น (Te-chato และคณะ,1995) การเพาะเลี้ยงปลายยอด และตาข้างของ kentucky coffeetree ในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม ascorbic acid 50 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 0 0.1 1.0 และ 10 uM หรือ TDZ ความเข้มข้น 0 5 15 และ 25 uM เนื้อเยื่อที่เลี้ยงในอาหารที่มี BA 0.1 หรือ 1.0 uM จะแตกยอดใหม่ เมื่อย้ายกลุ่มตายอดขนาด 0.5-1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ไปเลี้ยงในอาหารที่มี BA 36 uM สามารถชักนำให้เกิดตายอดจำนวนมากเฉลี่ย 35 ยอดต่อเดือน แล้วชักนำให้ยอดยืดยาวขึ้นในอาหารที่เติม BA 9 uM ร่วมกับ NAA 0.5 uM (Smith และ Obeidy,1991)