บทที่ 2

เอกสารและผลงานที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับจันทน์ผา

จันทน์ผา มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Dracaena lourieri* . มีชื่อเรียกได้หลายชื่อเช่นจันทน์แดง ลักจั่น (ธวัชชัย,2540) อยู่ในวงศ์ Agavaceae จันทน์ผาเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง มีลำต้นสูงประมาณ 5-7 ฟุต ลำต้นแกร่งตั้งตรงเป็นลำ ลำต้นอาจสั้นหรือเจริญเติบโตได้ดี มีเหง้า เปลือกของลำต้นเกลี้ยงเป็นสีเทานวล ใบจะแตกเป็นพุ่มหนาแน่นตามส่วนยอดหรือบางครั้งก็แตกสาขาออกจากลำต้นใหญ่ ใบยาวเรียว แคบ ปลายใบแหลมรูปหอก ขอบใบเรียบเกลี้ยง สีเขียวเข้ม ใบกว้างประมาณ 1.5 – 2.0 นิ้ว ยาวประมาณ 1.5 – 2 ฟุต ดอกเป็นพวง จะแตกออกตามโคน ก้านใบคล้ายจั่นหมาก พวงหนึ่งประกอบด้วยดอกเล็กๆ จำนวนมากมาย หลายพันดอก มีสีขาว ใน 1 ดอก มีกลีบดอก 6 กลีบ ตรงกลางดอกจะมีจุดสีแดงสด ดอกบานเต็มที่ประมาณ 0.5 นิ้ว จั่นพวงหนึ่งจะยาวห้อยลงมาตั้งแต่ 1.5 – 2.0 ฟุต เมื่อดอกแก่จะติดผลเป็นรูปกลมเล็กๆ ขนาดเท่าผลมะแว้ง ผลที่อ่อนจะมีสีเขียวแก่เมื่อสุกจะเป็นสีแดง และกลายเป็นสีดำคล้ำตามลำดับ เนื่องจากเป็นไม้กลางแจ้ง ดินที่ปลูกควรมีหินปนอยู่ด้วย เพราะจันทน์ผาชอบฝังรากลงไปในหินใต้ดิน และสามารถทนความแห้งแล้งได้ดี ขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ด หรือปักชำ มักพบขึ้นอยู่ตามภูเขาสูงๆ (วิทย์,2530,เอื้อมพร และคณะ ,2541)

2.2 การขยายพันธุ์พืชโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การขยายพันธุ์พืชโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีผลดีคือ ใช้ต้นพันธุ์น้อย ได้ผลผลิตจำนวนมากในเวลาสั้น สามารถเก็บพันธุ์ไว้ได้นาน เสียค่าใช้จ่ายน้อย โอกาสกลายพันธุ์น้อยมาก จึงเป็นที่นิยมของนักวิชาการทั่วไป การขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้องอาศัยปัจจัยหลายอย่าง เช่น เทคนิคการปลอดเชื้อ สภาพแวดล้อม ชนิดของอาหารที่เพาะเลี้ยง สารควบคุมการเจริญเติบโตที่สมดุลกันระหว่างไซโตไคนินกับออกซิน และชนิดของพืช รวมถึงอวัยวะของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง เป็นต้น สำหรับจันทน์ผายังไม่พบรายงานว่ามีผู้นำมาขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แต่พบว่ามีพืชที่อยู่ในวงศ์เดียวกันหลายชนิด ได้นำมาขยายพันธุ์และได้ผลดี ได้แก่ *Dracaena fragrans* , *D. godseffiana* , *D. marginata* , *D. deremensis* , *D. nidivisa* (Vinterhalter,D.V.,1989) *Agave sisalana* , *A. arizonica* Gentry & Weber , *A. atrouirens* , *A. fourcroydes* , *A. tequilana* เป็นต้น ดังมีรายงานดังนี้

2.2.1 อวัยวะของพืชที่นำมาใช้ในการขยายพันธุ์

พืชในวงศ์ Agavaceae ได้มีนักวิทยาศาสตร์ทดลองนำอวัยวะต่างๆ มาใช้ในการขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง พบว่ามีอวัยวะหลายชนิดที่สามารถนำมาใช้ได้ เช่น ใบอ่อน สามารถชักนำให้เกิดแคลลัส ถึงแม้จะได้ผลไม่ดี (Frydrych , D, 1982) ชิ้นส่วนของเมล็ดสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสและพัฒนาเป็นต้นได้ (Groenewald , E.G. *et.al.*,1977) แต่มีรายงานว่าโอกาสที่เมล็ดของ *A.fourcroydes* จะถูกชักนำให้เกิดแคลลัสนั้นได้ผลต่ำมาก ก้านช่อดอกและบัลบิล (Bulbils) เป็นอวัยวะที่สามารถนำมาขยายพันธุ์ได้ แต่ไม่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัส เนื่องจากมีขีดจำกัดในการเจริญเติบโต เช่น *A. sisalana* เป็นพืชที่ออกดอกช้า ใช้ช่วงชีวิตประมาณ 8-9 ปี จึงจะออกดอก 1 ครั้ง ทำให้ไม่เหมาะสมในการนำมาขยายพันธุ์ อวัยวะที่เหมาะสมและนำมาใช้กันอย่างกว้างขวางได้แก่ ลำต้น และลำต้นใต้ดินที่เรียกว่าไรโซม (Rhizome) เป็นอวัยวะที่ได้ผลดี สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสหรือเกิดต้นได้ (Robert,M.L.*et al*,1987,Power, D.E.,*et al*.1989 ; Madrigal,*et al*.,1981)

2.2.2 อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง

อาหารแต่ละชนิดจะมีสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์แตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ อาหารที่นิยมนำมาใช้ได้แก่ เอ็มเอส (Murashige T.,Skoog F.,1962) Gamborg(Gamborg O.L., *et.al.*,1968) และเอสเอช (Schenk R U,Hildebrandt AC.1972) ตัวอย่างเช่นการเพาะเลี้ยง *A.fourcroydes* โดยใช้เนื้อเยื่อจากไรโซมมาเลี้ยงในอาหาร Gamborg สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ (Robert,M.L.,*et al*.,1987) *A.sisalana* ขยายพันธุ์โดยใช้ไรโซม ใบอ่อนมาเลี้ยงในอาหารเอ็มเอส หรือเอสเอช มีน้ำตาล 30 เปอร์เซ็นต์ วุ้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ และใช้วิตามินของเอ็มเอส พบว่าไรโซมจะเจริญในอาหารเอ็มเอสได้และการเกิดต้นรวมโดยตรงจากเนื้อเยื่อไรโซมของ *A. sisalana* ถ้าใช้อาหารเอสเอช เนื้อเยื่อจะเจริญได้ดี (Das,T.,1992) ถึงแม้ว่าอาหารเอ็มเอสสามารถนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลำต้นเพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสได้ แต่เนื้อเยื่อพัฒนาได้ไม่ดี จึงได้มีการทดลองนำเอาสูตรอาหารเอ็มเอสมาดัดแปลง โดยใช้สัดส่วนของ KNO_3 และ NH_4NO_3 ที่สมดุลกัน เช่น การเพาะเลี้ยง *A. fourcroydes* โดยใช้เนื้อเยื่อของลำต้นมาเลี้ยงในอาหารเอ็มเอสมี KNO_3 5.0 มิลลิโมลาร์ และ $NH_4NO_3$18.0 มิลลิโมลาร์ มี 0.25 มิลลิกรัม/ลิตรของ 2,4-ดี ร่วมกับ1.0 มิลลิกรัม /ลิตร ของ บีเอ พบว่าสามารถชักนำให้เนื้อเยื่อลำต้นเกิดแคลลัสได้ดี แตกต่างจากที่ไม่ได้ดัดแปลงสูตรเอ็มเอส อาหารที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงแต่ละสูตรจะใช้ปริมาณของวุ้นแตกต่างกัน เช่น เอ็มเอส Gamborg และ เอสเอช ใช้วุ้น 1.0 , 0.8 และ 0.6 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนัก/ปริมาตร ตามลำดับ (Robert , M.L. *et al*.,1987)

2.2.3 การชักนำให้เนื้อเยื่อเกิดแคลลัส

ในวงศ์ Agavaceae สามารถชักนำให้เกิดเนื้อเยื่อแคลลัสได้ จากอวัยวะหลายชนิด เช่น ใบ ลำต้น ไรโซม เมล็ด เป็นต้น แต่เนื้อเยื่อจะเจริญเติบโตเป็นแคลลัสได้ดีหรือไม่ย่อมขึ้นอยู่กับอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโต ถ้ามีอาหารที่ประกอบด้วยแร่ธาตุเหมาะสมและมีสารควบคุมการเจริญเติบโต กลุ่มออกซินและไซโตไคนินที่สมดุลจะเกิดแคลลัสได้ดี เช่น *A.fourcroydes* สามารถชักนำให้เนื้อเยื่อไรโซมเกิดแคลลัสได้ โดยเลี้ยงในอาหาร Gamborg ที่มี 0.25 มิลลิกรัม/ลิตร ของ 2,4-ดี ร่วมกับ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร ของ บีเอ เลี้ยงในที่มีแสงจะเกิดแคลลัสบริเวณรอยตัดที่ผิวของเนื้อเยื่อ สังเกตได้ภายใน 7 วัน (Robert,ML.,*et al.*,1987) *Dracaena fragrans* ใช้ลำต้นที่อ่อนมาเลี้ยงในอาหารเอ็มเอส มี บีเอ 0-0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ 2,4-ดี 0.25 มิลลิกรัม/ลิตร เนื้อเยื่อจะเกิดแคลลัส ถ้าใช้อาหารมี 2,4-ดี จำนวน 0.25 – 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร เพียงอย่างเดียวหรือร่วมกับ บีเอ 0.2 – 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร จะได้แคลลัสที่มีลักษณะแข็ง มีสีเหลืองและเจริญเติบโตช้า ซึ่งจะปรากฏภายใน 6-8 สัปดาห์ หลังจากเพาะเลี้ยงแคลลัสที่ได้จะเลี้ยงได้โดยเนื้อเยื่อไม่มีการพัฒนา โดยเลี้ยงในอาหารที่มี บีเอ 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร และ 2,4-ดี 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร (Vinterhalter ,D.V.,1989) *A.arizonica* ใช้บัลบิล เลี้ยงในอาหารเอ็มเอส มี 2,4-ดี 1.4 ไมโครโมลาร์ จะชักนำให้เกิดแคลลัส ส่วนของบัลบิลที่ใช้ได้ ได้แก่ บริเวณฐานมีขนาดยาว 15-25 มิลลิเมตร มาฟอกฆ่าเชื้อใน 1.0 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ และใส่ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ทวีน 20 เพื่อช่วยลดแรงตึงผิว แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการ ฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง เลี้ยงในอาหารเอ็มเอสมี อิโนซิตอล 555 ไมโครโมลาร์ วุ้น 8 กรัม/ลิตร ไทอมีน 1.2 ไมโครโมลาร์ น้ำตาล 58.5 มิลลิโมลาร์ จะเกิดแคลลัสที่ฐานของใบ ปรากฏเป็นสีเขียวให้เห็นใน 14 สัปดาห์ (Powers,D.E.,*et al.*,1989)

การเจริญของแคลลัส จากการศึกษาพื้นฐานพบว่าการชักนำให้เนื้อเยื่อเกิดแคลลัสต้องขึ้นอยู่กับสารควบคุมการเจริญเติบโต และในการเลี้ยงให้แคลลัสเจริญเติบโตก็ต้องขึ้นอยู่กับสัดส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโตเช่นกัน การเจริญเติบโตของแคลลัสใน *A.fourcroydes* เกิดขึ้นโดยมี 2,4-ดี 0.25 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ บีเอ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นระดับที่ใช้กันอย่างกว้างขวาง ถึงแม้ว่าการเจริญของแคลลัสที่ได้จากลำต้น จะเจริญได้ดีในอาหารที่มี เอ็นเอเอ 2.5 มิลลิกรัม/ลิตร และไอบีเอ 2.5 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งเป็นแหล่งของออกซินก็ตามแคลลัสที่ได้มาจากไรโซมเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเอสเอช ที่มี KNO_3 25.0 มิลลิโมลาร์ จะเจริญได้ดี และมีการเปลี่ยนอาหารทุกๆ 3-4 สัปดาห์ แคลลัสจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ขาว เป็นชนิดที่อยู่อย่างหลวมๆ และสามารถเลี้ยงแคลลัสให้เจริญเติบโตในห้องเพาะเลี้ยงได้นานกว่า 12 เดือน

2.2.4 การชักนำให้เกิดต้น

การชักนำให้เนื้อเยื่อพัฒนาไปเป็นต้นได้ สามารถทำได้ 2 แนวทางคือ การชักนำให้เกิดต้นจากเนื้อเยื่อของพืชที่นำมาเลี้ยงโดยตรงและการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัส ใน *A. arizonica* Gentry & Weber สามารถเพิ่มจำนวนต้นได้ โดยใช้แคลลัสบัลบิลมาเลี้ยงในอาหาร มีไทอมีน 0.3 ไมโครโมลาร์ กรดนิโคตินิค 5.0 ไมโครโมลาร์ ไพริดอซิน 0.5 ไมโครโมลาร์ อดีนีนซัลเฟต 198 ไมโครโมลาร์ ไทโรซิน 552 ไมโครโมลาร์ บีเอ 44.4 ไมโครโมลาร์ เอ็นเอเอ 0.5 หรือ 5.4 ไมโครโมลาร์ $NaH_2PO_4.H_2O$ 1.23 มิลลิโมลาร์ น้ำตาล 87.7 มิลลิโมลาร์ จะเกิดต้นในเวลา 1 เดือน และเพิ่มจำนวนมากขึ้นใน 12 สัปดาห์ เมื่อย้ายต้นไปเลี้ยงในอาหารเดิม 8-12 สัปดาห์ การชักนำให้เกิดต้นจากการพัฒนาของแคลลัส จะเกิดได้ดีในอาหารที่มีเอ็นเอเอ 5.4 ไมโครโมลาร์ เมื่อต้นเจริญเติบโตได้ดีมีใบยาวประมาณ 2-3 เซนติเมตร หรือยาวกว่านี้ สามารถแยกออกจากต้นนำไปกระตุ้นให้เกิดรากได้ (Powers,D.E.,*et al.*,1989) *A.fourcroydes* Lem.(Henequen) พบว่าการใส่ NO_3^- : NH_4^+ ที่สมดุลในอาหารเพาะเลี้ยง เป็นปัจจัยที่สำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโตของแคลลัส และการเกิดอวัยวะจากการเพาะเลี้ยงไรโซมและลำต้น การให้ไซโตไคนินที่มีความเข้มข้นสูงจะชักนำให้เกิดต้นในเนื้อเยื่อที่นำมาเพาะเลี้ยงโดยตรงและเมื่อนำต้นที่ได้มาย้ายลงในอาหารใหม่จะเกิดแคลลัสขึ้นบริเวณฐานของลำต้น และจากแคลลัสก็พัฒนาไปเป็นต้น ต้นที่ได้สามารถนำมาเลี้ยงในอาหารกระตุ้นรากเมื่อนำออกจากขวดเพาะเลี้ยงมาปลูกในสภาพภายนอก สามารถมีชีวิตรอดได้ 90 เปอร์เซ็นต์ (Robert.M L.,*et al.*, 1987) *A.tequilana* Weber ใช้อาหารเอ็มเอสดัดแปลงมีไนโตรเจน KNO_3 18 มิลลิโมลาร์ และ NH_4NO_3 5 มิลลิโมลาร์ และ มีบีเอ 44.41 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ 2,4-ดี 0.113 ไมโครโมลาร์ วุ้น 20 กรัม/ลิตร สามารถชักนำให้ลำต้นที่นำมาเพาะเลี้ยงเกิดต้นได้โดยไม่เกิดแคลลัสเมื่อเลี้ยงได้ 10 สัปดาห์ ไม่ต้องเปลี่ยนอาหาร (Castro-Concha,L.*et al.*,1990) *Dracaena fragrans* ชักนำให้เกิดต้นและต้นรวมโดยใช้สารบีเอ 0.5 – 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับไอบีเอ 1.0 – 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร หรือบีเอ 0.5 – 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร กับเอ็นเอเอ 0.1 - 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร โดยชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้น การชักนำให้เกิดตาข้างจำนวนมากใช้ บีเอ 0.5 – 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับเอ็นเอเอ 0.5 – 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร ถ้าต้องการให้ต้นสูงขึ้นจะเลี้ยงในอาหารมีบีเอ 0.05-0.1 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับไอบีเอ 1.0 – 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร สารควบคุมการเจริญเติบโต ไอบีเอ และ เอ็นเอเอ สามารถกระตุ้นให้ต้นมีความยาวมากขึ้น แต่ทางกลับกันบีเอจะขัดขวางความยาวของต้นในการพัฒนาของเนื้อเยื่อจากแคลลัสไปเป็นต้นรวม โดยใช้บีเอ 0.5 – 1.0 และ ไอบีเอ 0.5-2.0 มิลลิกรัม/ลิตร หรือ เอ็นเอเอ 0.1 – 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร จะให้ผลดี และการชักนำให้แคลลัสเกิดไรโซมจะใช้อาหารมีไอบีเอ 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร หรือ 0.05 มิลลิกรัม/ลิตร ของ 2,4 – ดี ดังนั้นการเกิดต้นรวมของ *D.fragrans* เกิดจากอิทธิพลของออกซิน ได้แก่ ไอบีเอ หรือเอ็นเอเอ ร่วมกับ บีเอ (Vinterhalter , D.V.,1989)

ใน *Agave fourcroydes* ชักนำให้แคลลัสที่ได้จากไรโซมมีการพัฒนาเป็นอวัยวะได้ โดยใช้อาหารเอสเอชที่มีออกซินแตกต่างกัน ร่วมกับไซโตไคนินที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน และมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณของสารอนินทรีย์ได้แก่ NO_3^- ;NH_4^+ ที่สมดุลจากการทดลองพบว่าเมื่อใช้ 2,4– ดี 0.025 0.25 2.5 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ บีเอ 0.0 , 0.01, 0.10 , 1.0 , 10.0 มิลลิกรัม/ลิตร ในอาหารเอสเอช ที่ได้ดัดแปลงมีความเข้มข้นของ NH_4NO_3 และ KNO_3 ทำให้เนื้อเยื่อของแคลลัสเจริญเติบโตได้ดี ถ้าใช้ KNO_3 5.0 มิลลิโมลาร์ : NH_4NO_3 10.0 มิลลิโมลาร์ มี 2,4-ดี 0.25 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ บีเอ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร แคลลัสจะเจริญเติบโตมีโครงสร้างคล้ายไรโซม แต่ถ้าใช้ 2,4-ดี 0.025 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ บีเอ 10.0 มิลลิกรัม/ลิตร ในอาหาร เอสเอช มี KNO_3 5.0 มิลลิโมลาร์ NH_4NO_3 10.0 มิลลิโมลาร์ มีการเปลี่ยนอาหารทุก 6 สัปดาห์ แคลลัสจะพัฒนาไปเป็นต้น สร้างต้นได้ประมาณ 4 ต้น ภายใน 12 – 16 สัปดาห์ หลังจากเปลี่ยนอาหาร การเกิดต้นรวมจากเนื้อเยื่อของต้นโดยตรงโดยไม่ผ่านระยะแคลลัส จากการศึกษาในต้น *A.fourcroydes* เมื่อนำต้นมาเลี้ยงในอาหารเอ็มเอส มี KNO_3 5.0 มิลลิโมลาร์ NH_4NO_3 18.0 มิลลิโมลาร์ มี 2,4 – ดี 0.025 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ บีเอ 10 มิลลิกรัม/ลิตร จะทำให้ต้นที่นำมาเพาะเลี้ยง พัฒนาเป็นต้นรวมจำนวนมาก แต่ถ้าใช้ 2,4-ดี 0.25 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ บีเอ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร เนื้อเยื่อจะพัฒนาเป็นแคลลัส หลังจากการชักนำให้เกิดต้น ต้นจะเจริญติดต่อกันโดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหารภายใน 12 สัปดาห์ ต้นจะสูงขึ้นถ้าตัดต้นมาวางเลี้ยงในอาหารมี 2,4-ดี 0.25 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ บีเอ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร จะทำให้บริเวณรอยตัดของต้นที่สัมผัสกับอาหารพัฒนาเป็นแคลลัส แคลลัสที่ได้มานี้สามารถพัฒนาไปเป็นต้นใหม่ได้อีกประมาณ 5 ต้น ภายใน 4-8 สัปดาห์ (Robert , M.L.,*et al.*,1987)

2.2.5 การชักนำให้เกิดราก

ในการชักนำให้เนื้อเยื่อของพืชเกิดรากต้องอาศัยอิทธิพลของสารกลุ่มออกซิน ที่มีความเข้มข้น แตกต่างกัน เช่น *D.fragrans* ใช้ ไอบีเอ 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันทำให้ต้นเกิดราก มีจำนวนราก และความยาวรากแตกต่างกัน ถ้าให้ ไอบีเอ 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร เกิดรากได้ 100 เปอร์เซ็นต์ มีความยาวราก 35.0 มิลลิเมตร จำนวนราก/ต้น 4.5 ราก/ ต้น ถ้าใช้ไอบีเอ 0.2 มิลลิกรัม/ลิตร เกิดรากมีความยาว 30.2 มิลลิเมตร จำนวนราก 4.5 ราก/ต้น เมื่อมีไอบีเอ 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร ความยาวรากจะสั้นลงมีเพียง 7.6 มิลลิเมตร แต่มีจำนวนรากมาก 8.7 ราก/ต้น ปริมาณของไอบีเอ ยิ่งสูงขึ้นจะทำให้รากสั้นลง แต่มีจำนวนรากมากขึ้น เมื่อเลี้ยงในอาหารได้ 28 วัน การยาวของรากนอกจากขึ้นอยู่กับปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโตแล้ว ยังขึ้นอยู่กับแสง ถ้ามีแสงรากจะยาว แต่ถ้าอยู่ในที่มืดรากจะสั้น (Vinterhalter , D.V., 1989.) *A.fourcroydes* เมื่อนำต้นที่ได้ มีความสูง 1-2 เซนติเมตรมาเลี้ยงในอาหารมี 2,4-ดี 0.025 มิลลิกรัม/ลิตร โดยไม่มีไซโตไคนิน ใช้อาหารเอ็มเอช ที่มี KNO_3 5.0 มิลลิโมลาร์ NH_4NO_3 18.0 มิลลิโมลาร์ จะเกิดรากภายใน

4-6 สัปดาห์ สามารถเกิดรากได้ 87 เปอร์เซ็นต์ เมื่อต้นอายุได้ 8 - 12 สัปดาห์ พร้อมที่จะย้ายลงไปปลูกในดิน ในทำนองเดียวกันการใช้อาหารเอสเอช มี 2,4-ดี 0.025 มิลลิกรัม/ลิตร อย่างเดียวก็สามารถชักนำให้ต้นเกิดรากได้ เช่นกัน (Robert , M.L.,*et al* ., 1987) *A.arizonica* เมื่อย้ายต้นไปเลี้ยงในอาหารไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยใช้ ไทอมีน 0.5 ไมโครโมลาร์ กรดนิโคตินิค 4.0 ไมโครโมลาร์ ไพริดอซิน 0.5 ไมโครโมลาร์ น้ำตาล 58.5 มิลลิโมลาร์ ความเป็นกรดด่าง 5.7 ต้นสามารถเกิดรากได้ ภายใน 4-10 สัปดาห์ *D.fragrans* ker. Gawl ถ้าเลี้ยงต้นในอาหารเพาะเลี้ยงโดยได้รับแสง รากจะยาว แต่ถ้าอยู่ในที่มืดรากจะเจริญเติบโตช้า เมื่อย้ายต้นที่มีรากซึ่งเลี้ยงในที่มีแสงไปยังที่ไม่มีแสงจะทำให้ความยาวรากเจริญช้าลง แต่จะทำให้รากแตกแขนงมากขึ้น ในทำนองเดียวกัน ถ้าย้ายต้นที่อยู่ในที่มืดไปอยู่ในที่มีแสง รากก็จะยาวขึ้น ความยาวของรากไม่ได้เกี่ยวข้องกับปริมาณของน้ำตาลพบว่ารากสามารถเจริญได้ในอาหารที่ไม่มีน้ำตาล ในการกระตุ้นการเกิดรากของ *D.fragrans* กระทำโดยตัดต้นยาวไม่เกิน 30 มิลลิเมตร วางเลี้ยงในหลอดทดลองขนาด 20 x 200 มิลลิเมตร มีอาหารเอ็มเอสอยู่ 25 มิลลิลิตร มีไอบีเอ 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้ต้นเกิดรากและรากยาวได้ (Vinterhalter D.V.,1989 ; Vinterhalter ,D.V. ,*et al* ., 1990)

2.2.6 **การย้ายต้นพืชที่มีรากสมบูรณ์แล้วออกจากขวดเพาะเลี้ยง**

ต้นพืชที่มีรากสมบูรณ์สามารถนำมาเลี้ยงในสภาพแวดล้อมภายนอกได้ เพื่อให้มีชีวิตรอดมากที่สุด ต้องคำนึงถึงสิ่งต่างๆ เช่น ความชื้น แสง ความไม่แข็งแรงของต้นพืช และเชื้อจุลินทรีย์ เป็นต้น ดังนั้นในการนำต้นพืชออกจากขวดเพาะเลี้ยง มักจะปฏิบัติดังนี้ ใช้วัสดุปลูกที่ผ่านการฆ่าเชื้อ หรือไม่ผ่านการฆ่าเชื้อแต่มีปริมาณของจุลินทรีย์น้อย ต้องล้างวุ้นออกให้หมด เพื่อลดปริมาณของจุลินทรีย์ที่จะเกิดขึ้น ให้ความชื้นแก่ต้นพืชโดยใช้ละอองน้ำฝอยๆ เพื่อป้องกันการเหี่ยวของใบ ต้น เนื่องจากใบมีการคายน้ำมาก หรือใช้ถุงพลาสติกใสคลุมปิดไว้อย่างน้อย 1-2 สัปดาห์ ก่อนนำออกไปเลี้ยงในเรือนเพาะชำ ดังรายงานการทดลองดังนี้ *A.sisalana* ทำการย้ายลงดิน โดยนำต้นที่ออกรากแล้ว มาล้างวุ้นออกด้วยน้ำประปา ให้วุ้นออกให้หมด เลี้ยงในวัสดุปลูกที่ประกอบด้วย ดิน : ทราย อัตราส่วน 1 : 1 ปิดด้วยถุงพลาสติกใสแสงผ่านได้ เป็นเวลา 15 วัน แล้วนำถุงออก นำมาเลี้ยงในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 90 – 100 วัน เมื่อต้นแข็งแรง จึงย้ายออกภายนอกได้ ต้นสามารถมีชีวิตรอดได้ 70 – 80 เปอร์เซ็นต์ *A.arizonica* Gentry & Weber ย้ายออกจากหลอดทดลองไปเลี้ยงในวัสดุปลูก โดยช่วงแรกจะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยง มีแสง เป็นเวลา 2-3 สัปดาห์ เมื่อต้นแข็งแรงจึงย้ายไปยังโรงเรือนเพาะชำ ที่ใช้ตาข่ายพรางแสงชนิด 50 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2-3 สัปดาห์ ปรากฏว่าต้นสามารถมีชีวิตรอดได้ 90 เปอร์เซ็นต์ (Powers,D.E.,*et al.*,1989)