บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จะประสบผลสำเร็จย่อมขึ้นอยู่กับปัจจัยภายในและภายนอกของพืช ปัจจัยภายใน ได้แก่ ชนิดของพืช พันธุกรรม อวัยวะ ชิ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง ปัจจัยภายนอกเป็นปัจจัยที่ผู้ทำการทดลองสามารถควบคุมได้ตามความต้องการของพืช เช่น อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง ปริมาณและชนิดของอาหาร สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช สภาพความเป็นกรดด่างของอาหาร ปริมาณของสารอินทรีย์ สภาพของอาหาร เช่น อาหารแข็ง อาหารเหลว อาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว อุณหภูมิ ความเข้มและความยาวนานในการให้แสง และสภาพความปลอดเชื้อ เป็นต้น (Evans, *et.al.*,1983)

อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นปัจจัยภายนอกที่สำคัญ สามารถทำให้ชิ้นส่วนพืชเจริญเติบโตไปเป็นอะไรได้ตามความประสงค์ของผู้ทำการทดลอง

1. ส่วนประกอบของอาหาร

อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชประกอบด้วย สารอนินทรีย์ สารอินทรีย์ สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และอาหารเสริม

1.1 **สารอนินทรีย์** สารอนินทรีย์ ได้แก่ แร่ธาตุต่างๆที่สำคัญในการดำรงชีวิตของพืช คือ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส กำมะถัน แคลเซียม โปแทสเซียม แมกนีเซียม เหล็ก แมงกานีส ทองแดง สังกะสี โบรอน และโมลิบดินัม ในกลุ่มแร่ธาตุ 6 ชนิดแรก พืชต้องการจำนวนมาก จัดเป็นธาตุอาหารหลัก พืชต้องจำนวนมากกว่า 0.5 มิลลิโมล/ลิตร ส่วน 6 ธาตุหลังพืชต้องการจำนวนน้อย จัดเป็นธาตุอาหารรอง พืชต้องการน้อยกว่า 0.5 มิลลิโมล/ลิตร ตามการแนะนำของ International Association for Plant Physiology ธาตุเหล่านี้มีความสำคัญต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเช่นเดียวกัน

1.2 **สารอินทรีย์** สารอินทรีย์เป็นสารประกอบพวกไนโตรเจน เนื้อเยื่อพืชสามารถสังเคราะห์ได้ แต่มีปริมาณต่ำกว่าปกติ เพื่อให้เนื้อเยื่อพืชมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด จึงต้องเติมวิตามิน กรดอะมิโน ลงในอาหาร อาจใช้เพียงชนิดเดียวหรือหลายชนิด สารประกอบในกลุ่มนี้

ได้มีการทดลองพบว่า ไทอะมีน (thiamine) เป็นสารประกอบที่สำคัญที่สุด และยังมีวิตามินอื่นๆ ที่นำมาใช้ ได้แก่ ไพริดอกซิน (pyridoxine) กรดนิโคตินิค (nicotinic acid) แคลเซียมแพนโททีเนต (calcium panthothenate) และ อิโนซิตอล (inositol) วิตามินจะทำให้เนื้อเยื่อของพืชเจริญเติบโตได้ดีในสูตรอาหารต่างๆ

แหล่งคาร์บอน แหล่งคาร์บอนเป็นสิ่งสำคัญที่จะทำให้พืชที่นำมาเพาะเลี้ยงสามารถมีชีวิตอยู่ได้ในช่วงแรก เนื่องจากเนื้อเยื่อพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงในช่วงแรกส่วนของพืชที่เป็นสีเขียวจะค่อยๆสูญเสียรงควัตถุไปทีละน้อยๆ ในระหว่างที่เพาะเลี้ยง จึงต้องมีการเสริมคาร์บอนจากภายนอก ถึงแม้ว่าพืชนั้นจะมีรงควัตถุอยู่แล้วก็ตาม ในช่วงแรกพืชจะไม่สามารถสร้างคาร์บอนได้เอง จนกว่าเนื้อเยื่อจะรวมตัวกันเป็นต้นพืชที่เจริญได้ภายใต้แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมในอาหาร แหล่งคาร์บอนที่นำมาใช้ได้แก่ ซูโครส ความเข้มข้น 2-5 เปอร์เซ็นต์ กลูโคส ฟรุตโตส มอลโตส กาแลคโตส เป็นต้น แต่ที่นิยมมาใช้มากที่สุดได้แก่ ซูโครส เพราะได้ผลดี (Ball, 1953,1955)

1.3 **สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช** สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชทำให้เนื้อเยื่อเจริญเติบโตได้ดีขึ้น เช่น ออกซิน ไซโตไคนิน และ จิบเบอเรลลิน เป็นต้น

ออกซิน ในธรรมชาติสารกลุ่มออกซินมีผลต่อการยืดตัวของ ลำต้น ปล้อง การโค้งเข้าหาแสง ยับยั้งการเจริญเติบโตของตาข้าง การร่วงของ ใบ ดอก และผล แต่จะทำให้เกิดรากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ช่วยในการแบ่งเซลล์และการชักนำให้เกิดราก ออกซินที่นิยมนำมาใช้ ได้แก่ ไอเอเอ (indole acetic acid) ไอบีเอ (indole butyric acid) เอ็นเอเอ (naphthalene acetic acid) 2,4-ดี (2,4-dichlorophenoxy acetic acid) เป็นต้น ที่นิยมนำมาใช้มากได้แก่ ไอบีเอ และ เอ็นเอเอ เพื่อกระตุ้นให้เกิดราก ใช้ร่วมกับไซโตไคนินเพื่อการเจริญเติบโตของต้น ส่วน 2,4-ดี ใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัส

ไซโตไคนิน ไซโตไคนินมีผลต่อการแบ่งเซลล์ ช่วยในการเจริญเติบโตของตาข้าง สามารถชักนำให้เกิดต้นรวมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ที่นำมาใช้ได้แก่ บีเอ ไคเนติน

1.4 **อาหารเสริม** อาหารเสริมเป็นสารอาหารที่ช่วยทำให้เนื้อเยื่อของพืชเจริญเติบโตได้ดียิ่งขึ้น ได้แก่ น้ำมะพร้าว น้ำมะเขือเทศ กล้วยสุกบด ยีสต์สกัด มอลท์สกัด เป็นต้น

2. ชนิดของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีอยู่หลายชนิด เช่น Heller 1953 Nitsch and Nitsch 1956 White 1963, 1943 Hildebrandt Riker and Duggar 1946 Murashige and

Skoog 1962 Gautherret 1942 Wood and Braun 1961 Eriksson 1965 Gamborg, Miller and Ojima 1968 (B 5) เป็นต้น ดังตัวอย่างสูตรอาหารในตารางที่ 2-1 และ 2-2

ตารางที่ 2-1 สูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชบางชนิด ส่วนประกอบของอาหารที่เป็นสารอนินทรีย์ ที่เป็นธาตุอาหารหลัก และธาตุอาหารรอง

สารประกอบ	Nitsch and Nitsch 1956	White 1963	Murashige and Skoog 1962	Gautheret 1942	Wood and Braun 1961	Gamborg Miller and Ojima 1968
KCl	1500	65	-		910	-
$NaNO_3$	-	-			1800	-
$MgSO_4.7H_2O$	250	720	370	125	1360	250
$NaH_2PO_4.H_2O$	250	16.5	-	-	300	150
$CaCl_2.2H_2O$	-	-	440	-	-	150
KNO_3	2000	80	1900	125	80	2500
$CaCl_2$	25	-	-	-	-	-
Na_2SO_4	-	200	-	-	88	-
$(NH_4)_2SO_4$	-	-	-	-	790	134
NH_4NO_3	-	-	1650	-	-	-
KH_2PO_4	-	-	170	125	-	-
$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	-	300	-	500	200	-
$NiSO_4$	-	-	-	0.05	-	-
$FeSO_4.7H_2O$	-	-	27.8	0.05	-	27.8
$MnSO_4.H_2O$	-	-	-	-	-	10.0
$MnSO_4.4H_2O$	3	7	22.3	3	-	-
$MnCl_2.4H_2O$	-	-	-	-	4.5	-
KI	-	0.75	0.83	0.5	0.75	0.75

ตารางที่ 2-1 ต่อ สูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชบางชนิด ส่วนประกอบของอาหารที่เป็นสารอนินทรีย์ ที่เป็นธาตุอาหารหลัก และธาตุอาหารรอง

สารประกอบ	Nitsch and Nitsch 1956	White 1963	Murashige and Skoog 1962	Gautheret 1942	Wood and Braun 1961	Gamborg Miller and Ojima 1968
$CoCl_2.6H_2O$	-	-	0.025	-	-	0.025
$Ti(SO_4)_3$	-	-	-	0.2	-	-
$ZnSO_4.7H_2O$	0.5	3	8.6	0.18	1.5	2.0
$CuSO_4.5H_2O$	0.025	-	0.025	0.05	0.013	0.025
$BeSO_4$	-	-	-	0.1	-	-
H_3BO_3	0.5	1.5	6.2	0.05	1.5	3.0
H_2SO_4	-	-	-	1.0	-	-
$FeCl_3.6H_2O$	-	-	-	-	2.5	-
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.025	-	0.25	-	-	0.25
H_2MoO_4	-	-	-	-	0.0017	-
$Fe(SO_4)_3$	-	2.5	-	-	-	-

ที่มา Street, 1977 ; 39 และ 43

มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร SAKHON RAJABHAT UNIVERSITY

ตารางที่ 2-2 สูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชบางชนิด ส่วนประกอบของอาหารที่เป็นสารอินทรีย์

สารประกอบ	Nitsch and Nitsch 1956	White 1963	Murashige and Skoog 1962	Gautheret 1942	Wood and Braun 1961	Gamborg Miller and Ojima 1968
Sucrose	34000	20000	30000	30000	20000	20000
Glycine	-	3	2	3	3	-
Myo-inositol	-	-	100	-	100	100
Cysteine	-	1.0	-	10	-	-
Vit B1	-	0.1	0.1	0.1	0.1	10
Vit B6	-	0.1	0.5	0.1	0.1	0.1
Nicotinic acid	-	0.5	0.5	0.5	0.5	-
EDTA	-	-	37.3	-	-	37.3
Ca D-pantothenic acid	-	1.0	-	-	-	-

ที่มา Street, 1977 ; 39 และ 43

3. ความสำคัญของธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช

คำว่าธาตุอาหารหมายถึงธาตุทางเคมีที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช ธาตุอาหารของพืชแบ่งตามปริมาณความต้องการ ได้แก่ ธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง แต่ละธาตุจะมีบทบาทแตกต่างกันดังนี้

3.1 บทบาทของธาตุที่มีต่อพืช ธาตุอาหารแต่ละชนิดมีบทบาทดังนี้

คาร์บอน ออกซิเจน ไฮโดรเจน เป็นส่วนประกอบของโครงสร้างของพืช

ไนโตรเจน เป็นส่วนประกอบของโปรตีนในพืช กรดอะมิโน ส่วนประกอบของวิตามิน กรดนิวคลีอิค โคเอนไซม์

ฟอสฟอรัส เป็นส่วนประกอบที่สำคัญในเมล็ด ส่วนของ ATP NADP และอื่นๆ ในระบบพลังงาน

โปแทสเซียม เป็นส่วนประกอบของส่วนที่กำลังเจริญเติบโต ทำให้เอนไซม์ประมาณ 60 ชนิดมีฤทธิ์ ช่วยในการสังเคราะห์โปรตีน มีผลต่อการปิดเปิดของปากใบ

กำมะถัน เป็นส่วนประกอบของโปรตีน กรดอะมิโน

แคลเซียม มีมากที่ใบผนังเซลล์ ทำให้เอนไซม์มีฤทธิ์ เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ยอมให้สารผ่านเข้าออกได้

แมกนีเซียม มีในคลอโรฟิลล์ ทำให้เอนไซม์มีฤทธิ์ เป็นส่วนประกอบในโมเลกุลของคลอโรฟิลล์

เหล็ก ทำหน้าที่สร้างสีเขียว เป็นส่วนประกอบของเอนไซม์

โบรอน มีมากในส่วนหัวและผล มีผลต่อการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์

สังกะสี มีส่วนสร้างการเจริญเติบโต การสังเคราะห์โปรตีน ฮอร์โมน มีความสำคัญในการสืบพันธุ์ ส่วนประกอบของเอนไซม์

แมงกานีส ทำหน้าที่สร้างกิ่งก้าน มีผลต่อ ATP ส่วนประกอบของคลอโรฟิลล์

ทองแดง ทำหน้าที่สร้างกิ่งก้านของใบ

โมลิบดินัม ช่วยเสริมในการใช้ไนโตรเจน ส่วนประกอบของเอนไซม์

คลอรีน สร้างก้านใบ และส่วนของผล มีผลต่อออสโมซิส

โคบอลท์ ทำหน้าที่ไม่ชัดเจนในพืช แต่ถ้าพืชเป็นอาหารสัตว์จะแสดงออกที่สัตว์เลี้ยงโดยอาการผอมเกร็ง

3.2 **รูปของธาตุอาหารที่พืชนำมาใช้** ธาตุอาหารที่พืชนำมาใช้อยู่ในรูปดังนี้

ไฮโดรเจน H^+ HOH	ออกซิเจน O_2 OH^- $CO_3^=$ $SO_4^=$
คาร์บอน CO_2	ไนโตรเจน NH_4^+ NO_3^-
ฟอสฟอรัส $H_2PO_4^-$ $HPO_4^=$	โปแทสเซียม K^+
แคลเซียม Ca^{++}	แมกนีเซียม Mg^{++}
กำมะถัน $SO_4^=$	คลอรีน Cl^-
ทองแดง Cu^{++}	โบรอน $H_2BO_3^-$ $B(OH)_4^-$
เหล็ก Fe^{++} Fe^{+++}	แมงกานีส Mn^{++}

โมลิบดินัม $MoO_4^{=}$ สังกะสี Zn^{++}

สารประกอบที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจะนำสารประกอบอนินทรีย์มาใช้ในการให้ธาตุอาหารแก่พืช ตัวอย่างเช่น KCl $NaNO_3$ $MgSO_4.7H_2O$ $NaH_2PO_4.H_2O$ และ $CaCl_2.2H_2O$ เป็นต้น สารประกอบที่นำมาใช้จะเป็นสารประกอบที่มีความบริสุทธิ์สูง เป็นสารเคมีวิเคราะห์ (reagent grade)

สารเคมีวิเคราะห์เป็นสารเคมีเกรดที่มีความบริสุทธิ์สูงมาก และได้รับการผลิตและทำให้บริสุทธิ์ ตลอดจนการทดสอบให้มีสารที่เป็นมลทินบางอย่างต่ำกว่าบริมาณที่กำหนด ที่ภาชนะบรรจุสารเคมีเกรดนี้จะต้องระบุปริมาณที่มากที่สุดของสารที่เป็นมลทินกำกับไว้ สารเคมีเหล่านี้มีราคาสูงกว่าสารเคมีที่ใช้ทางการเกษตร (ศุภชัย ใช้เทียมวงค์ , 2539)

สารเคมีที่ใช้ทางการเกษตร

สารเคมีที่ใช้ทางการเกษตรประกอบด้วย ปุ๋ย สารควบคุมการเจริญเติบโต สารกำจัดวัชพืช ยาฆ่าแมลง เป็นต้น

1. ความหมายของคำว่าปุ๋ย

ปุ๋ยหมายถึงวัสดุใดๆก็ตามที่มีธาตุอาหารพืช เมื่อใส่ลงในดินแล้วบำรุงดินและพืชจะเจริญงอกงามได้ดี ความหมายตาม พ.ร.บ. 2518 หมายถึง สารอินทรีย์ หรือสารอนินทรีย์ไม่ว่าเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติหรือทำขึ้นก็ตาม สำหรับใช้เป็นธาตุอาหารพืชได้ไม่ว่าโดยวิธีใด หรือทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในดิน เพื่อบำรุงความเจริญเติบโตของพืช

ประเภทของปุ๋ย ปุ๋ยแบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ ปุ๋ยอินทรีย์ กับปุ๋ยอนินทรีย์ ปุ๋ยอินทรีย์เป็นปุ๋ยที่ได้จากการย่อยสลายซากของสิ่งมีชีวิต ธาตุอาหารมีมากกว่าหนึ่งอย่างและปริมาณแต่ละธาตุมีไม่แน่นอน ปุ๋ยอนินทรีย์หรือปุ๋ยเคมี คือปุ๋ยที่ได้จากการสังเคราะห์หรือทำปฏิกิริยาทางเคมี เป็นสารประกอบทางเคมี มีธาตุอาหารที่สำคัญหนึ่งอย่างหรือมากกว่า และรู้ปริมาณธาตุอาหารนั้นๆแน่นอน

2. ชนิดของปุ๋ยอนินทรีย์

ปุ๋ยอนินทรีย์ที่มีขายอยู่ในท้องตลาดมีอยู่หลายชนิด เช่น ปุ๋ยไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โปแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียม กำมะถัน เช่นเดียวกับสารเคมีวิเคราะห์ บางชนิดผลิตเป็นชื่อการค้า เช่น ยูนิซอล® 29-10-10 ทวินเฟอร์ตี้® 21-21-21 ปุ๋ยสูตร 15-15-15 มีทั้งปุ๋ยที่เป็นธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง ผลิตขึ้นมาเพื่อให้เหมาะกับการเจริญเติบโตของพืชตามความประสงค์ของเกษตรกร

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หมายถึงการนำเอาชิ้นส่วนพืชมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ ที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อ จัดสภาพแวดล้อมให้เหมาะสม ทำให้พืชเจริญเติบโตได้ดี ชิ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง เช่น ตายอด ตาข้าง ใบ ก้านใบ ดอก เนื้อเยื่อ และ เซลล์ เป็นต้น ชิ้นส่วนพืชเหล่านี้จะเจริญเติบโตได้ดีหรือไม่ย่อมขึ้นอยู่กับอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง ได้แก่ธาตุอาหาร และสารควบคุมการเจริญเติบโต สารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน และไซโตไคนิน มีผลต่อการเจริญเติบโต ที่สามารถชักนำให้พืชแบ่งเซลล์ เกิดแคลลัส ราก หรือต้นรวม ออกซินสามารถชักนำให้เนื้อเยื่อเกิดรากได้ ส่วนไซโตไคนิน สามารถชักนำให้พืชเกิดต้นรวมจำนวนมาก (Skoog and Miller ,1957) มีการศึกษาพบว่านำปลายยอดของคาร์เนชันมาชักนำให้เกิดต้นรวมได้เมื่อเลี้ยงในอาหารเอ็มเอสที่มีไคเนติน 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับเอ็นเอเอ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร (Earle and Langhans, 1975) ใช้ตาข้างเลี้ยงในอาหารเอ็มเอส มีบีเอ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับไอเอเอ 0.01 มิลลิกรัม/ลิตร (Roest and Bokelmann, 1981) หรือใช้ตายอดและตาข้างเลี้ยงในอาหารเอ็มเอส ที่มีบีเอ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร สำหรับการเพาะเลี้ยงต้นมอสซี่บัสเตอร์ได้ทำการศึกษาพบว่าสามารถนำ ตายอด ตาข้าง และก้านใบ มาเลี้ยงในอาหารเอ็มเอส ที่มี บีเอ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นรวมจำนวนมากในเวลา 8 สัปดาห์ และเมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารเอ็มเอสที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำให้เกิดรากได้ภายใน 6 สัปดาห์

อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีอยู่หลายชนิด แต่จากรายงานการวิจัยพบว่า อาหารสูตรเอ็มเอส (Murashige and Skoog, 1962) ประกอบด้วยธาตุอาหารที่สมบูรณ์และเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชได้อย่างดี สามารถนำมาเพาะเลี้ยงกับเนื้อเยื่อได้หลายชนิด เช่น สตรอเบอรี่ กล้วย คาร์เนชัน มังคุด เยอบีรา เบญจมาศ หน้าวัว แกลดิโอลัส จันทน์ผา มอสซี่บัสเตอร์ กฤษณา มะตูม ขิง เป็นต้น

การใช้อาหารสูตรเอ็มเอสสามารถนำมาใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่แตกต่างกัน เช่น การเพาะเลี้ยงตายอด ตาข้าง เนื้อเยื่อพาเรงไคมา อับเรณู เอ็มบริโอ และยังสามารถนำมาใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ชักนำให้เจริญเป็น ราก เอ็มบริโอ และต้นรวม ดังรายงานการวิจัยดังนี้ การเพาะเลี้ยง *Gladiolus* sp. ใช้ตาข้างยาว 2-3 มิลลิลิตร เลี้ยงในอาหารเอ็มเอส มี ไคเนติน 2 มิลลิกรัม/ลิตร เอ็นเอเอ 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร จะเกิดต้นรวม และเมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารเอ็มเอสมีเอ็นเอเอ 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร มีผงถ่าน จะชักนำให้เกิดราก (Ziv, 1979) การเพาะเลี้ยงชา (*Camellia sinensis* L. O. Kuntze) ใช้อาหารเอ็มเอสชักนำให้เกิดต้นจำนวนมาก(Agarwal *et al*, 1992) การเพาะเลี้ยงแคลลัสจากใบที่ยังอ่อนและลำต้นของกุหลาบพันธุ์ *Rosa hybrida* L. cv. Landora และเปลี่ยนอาหารทุกๆ 4 สัปดาห์ ลงในอาหาร ½ เอ็มเอส มีน้ำตาลทราย 30 กรัม/ลิตร บีเอ 2.2 ไมโครโมลาร์ เอ็นเอเอ 5.4 ไมโครโมลาร์ และ 2,4-ดี 2.2-9.0 ไมโครโมลาร์ จะเจริญเป็นเอ็มบริโอภายใน 8 สัปดาห์ (Rout *et al*, 1991) ในการชักนำให้เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงเกิดราก อาจใช้อาหารแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด เช่น การเพาะเลี้ยงรากมะเขือเทศจะใช้อาหารสูตรไวท์ ซึ่งเป็นอาหารที่มีปริมาณธาตุอาหารน้อยกว่าอาหารเอ็มเอส หรือใช้อาหารสูตรเอ็มเอสที่ลดปริมาณลงเป็น ½ หรือ 1/5 ของสูตรอาหาร หรือใช้อาหาร Bonner and Devirian 1939 ดังรายงานการวิจัย การเพาะเลี้ยงราก *Acacia albida* พบว่าใช้อาหาร Bonner and Devirian จะชักนำให้เกิดรากได้ดีกว่าใช้อาหารสูตรไวท์ 1938 และ 1/5 เอ็มเอส (Ahee *et al*, 1994) การที่อาหารแต่ละชนิดมีผลต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อแตกต่างกันเพราะมีชนิดและความเข้มข้นของอาหารแตกต่างกัน จากรายงานพบว่า ความเข้มข้นของ KNO_3 มีผลต่อการชักนำให้อับเรณูของธัญพืชเจริญเป็นแคลลัสได้ (Feng *et al*, 1988)

สารอนินทรีย์ และสารอินทรีย์ที่นิยมนำมาใช้เป็นอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จะเป็นสารประกอบที่มีความบริสุทธิ์สูง เป็นสารเคมีวิเคราะห์ ซึ่งมีความบริสุทธิ์สูงมาก ได้รับการผลิตและทำให้บริสุทธิ์ ตลอดจนการทดสอบให้มีสารที่เป็นมลทินบางอย่างต่ำกว่าปริมาณที่กำหนด ที่ภาชนะบรรจุจะต้องระบุปริมาณที่มากที่สุดของสารที่เป็นมลทินกำกับไว้ สารเคมีชนิดนี้มีราคาสูงกว่าสารเคมีที่ใช้ทางการเกษตร (ศุภชัย ใช้เทียมวงศ์, 2539)

สารเคมีที่ใช้ทางการเกษตร เป็นสารเคมีชนิด commercial grade ซึ่งมีความบริสุทธิ์น้อย มีราคาถูก เกษตรกรนิยมเรียกว่าปุ๋ยอนินทรีย์ ปุ๋ยอนินทรีย์ที่มีขายอยู่ในท้องตลาดมีอยู่หลายชนิด เช่น ปุ๋ย ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โปแทสเซียม มีทั้งที่เป็นธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองผลิตขึ้นมาเพื่อให้เหมาะกับการเจริญเติบโตของพืช ตามความประสงค์ของเกษตรกร มีชื่อ

ทางการค้าอยู่หลายชนิด เช่น ยูนิซอล® 29-10-10 ยูนิเลท ® ทวินเฟอร์ตี้ ® 21-21-21 และปุ๋ยสูตร 15-15-15 เป็นต้น ปุ๋ยอนินทรีย์เหล่านี้สามารถนำมาใช้เป็นอาหารของพืชทำให้พืชเจริญเติบโตตามชนิดและปริมาณของสูตรอาหารที่ให้แก่พืชเมื่อปลูกในแปลง ไม่นิยมนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จากการศึกษาพบว่า งานวิจัยที่นำสารเคมีทางการเกษตรมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นน้อยมาก ได้แก่ สูตรอาหาร อรดี สหวัชรินทร์ 2530 ซึ่งประกอบด้วยปุ๋ยสูตร 13-27-27 ประมาณ 2 กรัม/ลิตร น้ำมะพร้าวอ่อน 150 มิลลิกรัม/ลิตร น้ำตาลทราย 30 กรัม/ลิตร วุ้น 6 กรัม/ลิตร ใช้เพาะเลี้ยงคัพภะและใบเลี้ยงของถั่ว สามารถชักนำให้เนื้อเยื่อเกิดแคลลัส หรือใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพาเรงไคมาจากต้นยาสูบหรือหัวแครอท (อรดี สหวัชรินทร์, 2530)