บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของหญ้าหวาน

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Stevia rebaudiana* Bertoni

วงศ์ : Compositae (Asteraceae)

ชื่ออื่น ๆ : Stevia, หญ้าหวาน (ภาพที่ 2.1)

ก ข

ภาพที่ 2.1 ลำต้น ใบและดอกหญ้าหวาน

ก. ลำต้นและใบ

ข. ดอก

ที่มา : อัครสิทธิ์ บุญส่งแท้ และคณะ, 2553

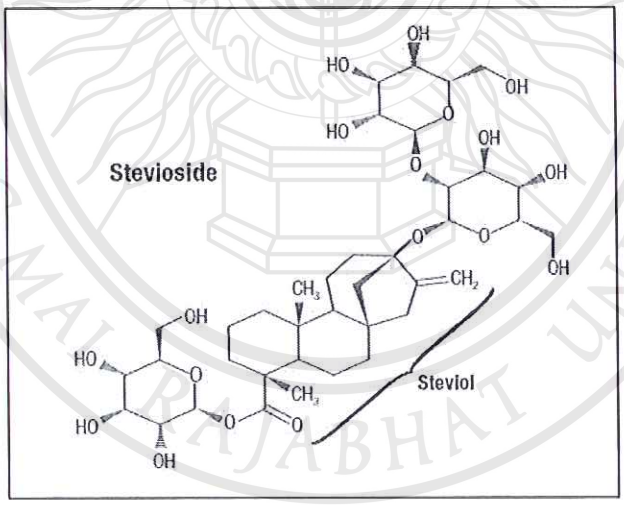
หญ้าหวาน (*Stevia rebaudiana* Bertoni.) เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Compositae เป็นไม้ล้มลุกอายุหลายปี (perennial herb) สูง 30-90 เซนติเมตรลำต้นแข็งกิ่งก้านมีสีเขียวมีขนละเอียดสีขาวกิ่งก้านแตกเป็นพุ่มใบเป็นใบเดี่ยว (simple leaf) สีเขียวสดเรียงแบบตรงข้าม (opposite vernation) รูปใบหอกกลับ (lanceolate) หรือรูปใบหอกกลับแกมขอบขนาน (oblong lanceolate) กว้าง 1-1.5 เซนติเมตร ยาว 3-4 เซนติเมตร ขอบใบหยักฟันเลื่อยมีขนอ่อนนุ่ม (pappus) มีรสหวาน ดอกเป็นดอกช่อกระจุกแน่น (head) ที่ปลายยอดกลีบดอกสีขาวประกอบด้วยดอกย่อยจำนวนมากกลีบดอกชั้นนอก (sepal) เป็นรูปกรวยยาวปลายกลีบแยกเป็นหยักโคนกลีบดอกชั้นในเชื่อมติดกัน (sympetalous) ปลายแยกเป็นกลีบดอก 5 กลีบเกสรตัวผู้ (stamen) เป็นสีขาวแทงขึ้นตรงกลางดอกเป็นเส้นผลแห้งไม่แตก (indehiscent) มีเมล็ดเดี่ยวเมล็ดสีดำมีขนปุยดอกช่อออกที่ปลายยอด กลีบดอกสีขาว ผลเป็นผลแห้งไม่แตกหญ้าหวานเป็นพืชพื้นเมืองแถบอเมริกาใต้ที่ขึ้น และปลูกในตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศปารากวัยและบราซิล(คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2535; ไมตรี สุทธจิตต์ อัมพวัน อภิสริยะกุล และรวิวรรณ พัวธนาโชคชัย, 2540; อัครสิทธิ์ บุญส่งแท้ กัลทิมาพิชัย และวัชรี หาญเมืองใจ, 2553)

หญ้าหวานมีถิ่นกำเนิดในประเทศบราซิลปารากวัยชื่อเดิมภาษาปรากวัยว่า Kar-he-e หรือภาษาสเปน Verbaducle แปลว่าสมุนไพรหวานชาวพื้นเมืองใช้เพิ่มรสอาหารเครื่องดื่มและชงเป็นชามะเตะมานานกว่า 400 ปี(ไมตรี และคณะ, 2540)โดยพบพืชชนิดนี้ในภาคตะวันตกเฉียงใต้ของอเมริกาอาร์เจนตินาเม็กซิโกอเมริกาใต้ปี พ.ศ. 2514 T.sumida จากศูนย์วิจัยการเกษตร Hokkaido แห่งกระทรวงเกษตรและป่าไม้ประเทศญี่ปุ่นได้นำเมล็ดพันธุ์หญ้าหวานจากประเทศบราซิลมาทำการทดลองปลูกในประเทศญี่ปุ่นและหญ้าหวานมีการเพาะปลูกเชิงการค้าที่ประเทศญี่ปุ่นจีนเกาหลีใต้ส่วนในประเทศไทยมีการปลูกมากทางภาคเหนือที่จังหวัดเชียงรายเชียงใหม่ลำพูนพะเยาเป็นต้นพืชชนิดนี้มักพบในพื้นที่เหนือระดับน้ำทะเลประมาณ 600 -700 เมตรอุณหภูมิ 20-26 องศาเซลเซียสพื้นที่ดินแฉะแต่น้ำไม่ขังมีแสงแดดดินที่ค่อนข้างเป็นกรด pH ประมาณ 6-6.5

สารประกอบทางเคมีและสาร สำคัญในหญ้าหวาน

สารสำคัญที่ให้รสหวานในหญ้าหวานเป็นสารประกอบพวกไดเทอร์พีนกลัยโคไซด์ซึ่งมีอยู่หลายชนิดคือ steviol, steviolbioside, stevioside, rebaudioside A-F และ dulcoside A โดยพบว่า stevioside เป็นสารที่พบในปริมาณมากที่สุดคือประมาณร้อยละ 2.0-7.7 รองลงมาคือ rebaudioside ประมาณร้อยละ 0.8-2.9 ส่วนสารตัวอื่นจะพบในปริมาณน้อยกว่า (Geuns, 2003)

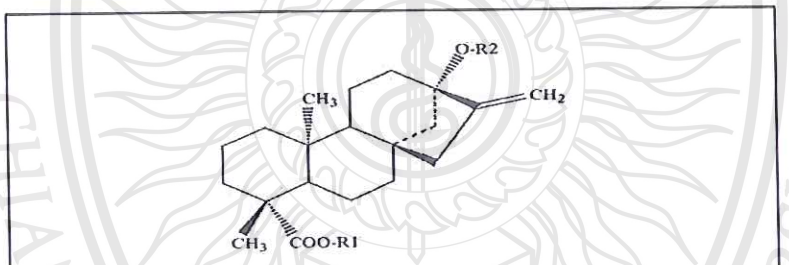
ความเป็นมาของการศึกษาวิจัย คือ ปีพ.ศ. 2451ดร.รีบูลดิ และ ราเซแน็ค (Dr. Rebaudi and Rasenack) นักเคมีชาวปารากวัยได้วิจัยประสบผลสำเร็จในการแยกสารสำคัญในใบหญ้าหวานปี พ.ศ. 2464 The Union International De Chime L Copenhagen (1921) ได้ให้การยอมรับและตั้งชื่อสารที่ค้นพบในใบหญ้า-หวานนี้ว่า "สตีวิโอไซด์ (Stevioside)" ในปี พ.ศ. 2474 ไบเดล และ ลีวีแอล (Baidel and Levieille) สามารถแยกสารสตีวิโอไซด์จากใบหญ้าหวานได้เป็นสารที่มีรสหวานจัดได้ในปริมาณ 6-10 เปอร์เซ็นต์ปีพ.ศ.2501 Nieman ได้ศึกษาเกี่ยวกับสารสตีวิโอไซด์และนำเสนอว่าเป็นสารที่สามารถบริโภคได้ปีพ.ศ. 2506 มาสเซทติ้ง และคณะ(Masseting and et al.)ได้ศึกษาสูตรโครงสร้างทางเคมีพบว่าสตีวิโอไซด์ เป็นสารกลุ่มไดเทอร์พีน-กลัยโคไซด์ (ภาพที่ 2.2 และ ภาพที่ 2.3) ประกอบด้วย Stevial และ Glucose 3 โมเลกุล สตีวิโอไซด์เป็นสารที่ไม่มีกลิ่นมีสีขาวรวมตัวกับน้ำได้ง่าย (อัครสิทธิ์ บุญส่งแท้ กัลทิมา พิชัย และวัชรี หาญเมืองใจ, 2553)



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างสารสตีวิโอไซด์ที่พบในหญ้าหวาน

ที่มา : Geuns,(2003)

สารในกลุ่มไดเทอร์พีนกลัยโคไซด์ (ภาพที่ 2.3) มีหลายชนิดด้วยกัน โดยในใบแห้งของหญ้าหวาน มีสตีวิโอไซด์เป็นสารให้ความหวานหลักที่พบในปริมาณมากที่สุด มีอยู่ประมาณ 5-10 เปอร์เซ็นต์ w/w และมีสารให้ความหวานอื่นๆ ที่เป็นสารในกลุ่มนี้อีก เช่น รีบาวดิโอไซด์ เอ (Rebaudioside A) อยู่ประมาณ 2-4 เปอร์เซ็นต์ w/w ซึ่งมีปริมาณรองจาก สตีวิโอไซด์, รีบาวดิโอไซด์ซี (RebaudiosideC) (1-2 เปอร์เซ็นต์ w/w) และดูลโคไซด์ เอ (Dulcoside A) (0.4-0.7 เปอร์เซ็นต์ w/w) เป็นต้น สารสตีวิโอไซด์เป็นสารในกลุ่มไดเทอร์พีนกลัยโคไซด์ ในโครงสร้างประกอบด้วย 2 ส่วนคือ Steviolaglycone และส่วนที่เป็นน้ำตาลกลูโคส 3 โมเลกุล มีลักษณะเป็นผลึกสีขาวไม่มีกลิ่นมีรสหวานสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายต่างๆเช่นน้ำแอลกอฮอล์ และสารละลายกรดและเมื่อเปรียบเทียบความหวานกับซูโครส (น้ำตาลทราย) สารสตีวิโอไซด์มีความหวานมากกว่าถึง 300 เท่า ส่วนสารไดเทอร์พีนกลัยโคไซด์ตัวอื่น ๆ ก็ให้ความหวานเช่นกันพบว่า สารไดเทอร์พีนกลัยโคไซด์ที่มีความเป็นขั้วน้อย (Steviolbioside) หรือมีหมู่ของน้ำตาล glucose เกาะที่โครงสร้างน้อยกว่าจะมีความหวานน้อย ส่วนสารไดเทอร์พีนกลัยโคไซด์ที่มีขั้วมากกว่าเช่นสาร รีบาวดิโอไซด์ เอ และสาร รีบาวดิโอไซด์ ดีจะให้ความหวานมาก ดังแสดงในตารางที่ 2.1 (สายดนีย์ หวังพัฒนาพาณิชย์, 2554)



	Compound name	R1	R2
1	steviol	H	H
2	steviolbioside	H	β-Glc-β-Glc(2→1)
3	stevioside	β-Glc	β-Glc-β-Glc(2→1)
4	rebaudioside A	β-Glc	β-Glc-β-Glc(2→1) | β-Glc(3→1)
5	rebaudioside B	H	β-Glc-β-Glc(2→1) | β-Glc(3→1)
6	rebaudioside C (dulcoside B)	β-Glc	β-Glc-α-Rha(2→1) | β-Glc(3→1)
7	rebaudioside D	β-Glc-β-Glc(2→1)	β-Glc-β-Glc(2→1) | β-Glc(3→1)
8	rebaudioside E	β-Glc-β-Glc(2→1)	β-Glc-β-Glc(2→1)
9	dulcoside A	β-Glc	β-Glc-α-Rha(2→1)

ภาพที่ 2.3 โครงสร้างสารไดเทอร์พีนกลัยโคไซด์ที่พบในหญ้าหวาน

ที่มา : Geuns,(2003)

ตารางที่ 2.1 ค่าความหวานของสาร Steviol glycosides

Compound	Relative sweetness
Stevioside	300
Rebaudioside A	250-450
Rebaudioside B	300-350
Rebaudioside C	50-120
Rebaudioside D	250-450
Rebaudioside E	150-300
Dulcoside A	50-120
Steviolbioside	100-125

ที่มา :สายดนีย์ หวังพัฒนพาณิชย์, (2554)

สตีวิโอไซด์เป็นสารหวานที่ได้จากหญ้าหวาน พบในใบมีปริมาณสูงกว่าในลำต้นหรือราก ปริมาณที่พบในใบค่อนข้างแตกต่างกันในตัวอย่างจากต่างแหล่งปลูกในช่วง 4-13 เปอร์เซ็นต์ สตีวิโอไซด์ มีความหวานถึง 300 เท่าของน้ำตาลซูโครส (Sucrose) ปัจจุบันมีการใช้สตีวิโอไซด์หรือสารสกัดหญ้าหวานเป็นสารหวานหรือใช้ทางยาในหลายประเทศ เช่น ปารากวัย บราซิล และญี่ปุ่นในปารากวัยใช้หญ้าหวานในการปรุงแต่งเครื่องดื่มตั้งแต่ศตวรรษที่ 16 ใช้สารสกัดใบด้วยน้ำเป็นยาคุมกำเนิดและรักษาโรคเบาหวาน มีบริษัทยาผลิตขายทางการค้าในรูปยาชง ชาวปารากวัยใช้หญ้าหวานปรุงแต่งรสหวานในอาหารมานานกว่า 100 ปี ชาวอินเดียใช้หญ้าหวานเป็นยาคุมกำเนิด (อัครสิทธิ์ และคณะ, 2553)

จุดเด่นของสารสตีวิโอไซด์ คือ เป็นสารที่ให้ความหวานสูง แต่ไม่ถูกย่อยให้พลังงาน มีความคงตัวและทนต่อความร้อนสูงและยังมีปริมาณมากในหญ้าหวาน จึงมีการพัฒนาวิธีการสกัดสารสตีวิโอไซด์จากหญ้าหวานให้มีความบริสุทธิ์ในระดับอุตสาหกรรม ปัจจุบันผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด มีการใช้สารสตีวิโอไซด์เป็นสารแต่งรสหวานสำหรับผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนักและใช้

เป็นสารปรุงแต่งรสหวานในเครื่องดื่ม ขนม ลูกอม ยาสีฟัน และน้ำยาบ้วนปาก เป็นต้น สารสตีวิโอ-ไซด์ได้รับอนุญาตให้ใช้เป็นสารปรุงแต่งในอาหาร (food additives) ในหลายประเทศ เช่น บราซิล เกาหลีและญี่ปุ่นในประเทศสหรัฐอเมริกาอนุญาตให้ใช้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (dietary supplement) (ฉัตรชัย เหมือนประสาท, 2553; สายดนีย์ หวังพัฒนพาณิชย์, 2554 ; Choi *et, al.*, 2002;Mizutaniand Tanaka, 2002) ส่วนในประเทศไทยใน ปี พ.ศ. 2545 สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาได้อนุญาตให้ใช้สารสตีวิโอไซด์ที่สกัดได้จากหญ้าหวานเป็นอาหารควบคุมเฉพาะ และอาหารที่มีส่วนผสมของสารสตีวิโอไซด์ต้องใช้เป็นอาหารสำหรับผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก (สายดนีย์ หวังพัฒนพาณิชย์, 2554) ยังมีรายงานว่ามีการใช้สารสกัดจากใบหญ้าหวานในการรักษาโรคความดันโลหิตสูงและโรคเบาหวาน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในประเทศต่าง ๆ แถบทวีปอเมริกาใต้อีกด้วย (ฉัตรชัย เหมือนประสาท, 2553)

ปุ๋ยสำหรับการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน

ปุ๋ยสำหรับการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินอาจแบ่งได้เป็น 4 ประเภท คือ

1. ปุ๋ยละลายช้าที่มีธาตุอาหารสมบูรณ์ปุ๋ยประเภทนี้ใช้กับการปลูกระบบรากยึด (aggregate culture) ถึงแม้จะเป็นปุ๋ยที่มีราคาแพงแต่ช่วยให้เกษตรกรลดค่าใช้จ่ายสำหรับระบบจ่ายสารละลาย และง่ายต่อการจัดการ ส่วนใหญ่นิยมใช้ในการปลูกกล้วยไม้ และหน้าวัว

2. ปุ๋ยสำหรับเตรียมสารละลายปุ๋ยประเภทนี้จะต้องเป็นสารเคมีที่ละลายน้ำได้ดีดังนั้นเราไม่สามารถใช้ปุ๋ยผสม (mixed fertilizer หรือ compound fertilizer) สำหรับใช้ทางดินแทนได้ เนื่องจากปุ๋ยผสมมักมีการเติมสารเติมแต่งซึ่งไม่ละลายน้ำลงไปด้วย และผู้ผลิตมักไม่ระบุชนิดของสารที่ใช้ผสมทำให้ไม่สามารถคำนวณได้ว่าควรต้องผสมธาตุอาหารอื่นลงไปอีกในปริมาณเท่าใด ดังนั้นปุ๋ยที่นำมาเตรียมสารละลายธาตุอาหารจะต้องเป็นปุ๋ยที่รู้สูตรเคมีแน่นอนและรู้ความเข้มข้นของธาตุอาหารที่ต้องการตัวอย่างปุ๋ยที่นิยมใช้แสดงในตารางที่ 5-5

3. ปุ๋ยเกล็ดผสมปุ๋ยประเภทนี้เกิดจากการนำสารเคมีหลายชนิดมาผสมกันตามสูตรที่ผู้ผลิตพัฒนาขึ้นผู้ผลิตมักขายปุ๋ยเกล็ดผสมพร้อมกับเทคโนโลยีสำเร็จรูปทั้งระบบเพื่ออำนวยความสะดวกในแก่ผู้ซื้อเช่นเมื่อผู้ซื้อตัดสินใจซื้อระบบปลูกแตงกวาสำเร็จรูปของผู้ผลิตเทคโนโลยีรายหนึ่ง ผู้ผลิตจะดำเนินการออกแบบและติดตั้งระบบปลูกให้แก่ผู้ซื้อพร้อมทั้งจำหน่ายวัสดุสิ้นเปลืองต่างๆ รวมทั้งปุ๋ยเกล็ดผสมให้แก่ผู้ซื้อผู้ซื้อเพียงแต่ปฏิบัติตามคำแนะนำของผู้ผลิตโดยไม่จำเป็นต้องมีความรู้ใดๆ เกี่ยวกับการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินปุ๋ยเกล็ดผสมอาจมีสูตร (สัดส่วนและความเข้มข้นของธาตุอาหาร)แตกต่างกันตามชนิดพืช และระยะการเจริญเติบโต

4. ปุ๋ยสารละลายเข้มข้นปุ๋ยประเภทนี้เกิดจากการนำปุ๋ยสำหรับการเตรียมสารละลายมาละลายน้ำตามสูตรต่าง ๆ ให้มีความเข้มข้นมากกว่าที่ต้องการใช้งานจริงประมาณ 50 - 300 เท่าผู้ซื้อเพียงแต่นำมาผสมน้ำตามสัดส่วนที่ผู้ผลิตระบุก็สามารถใช้ปลูกพืชได้ช่วยให้ผู้ซื้อไม่จำเป็นต้องซื้อปุ๋ยและสารเคมีหลายชนิดไม่จำเป็นต้องคำนวณและชั่งน้ำหนักสารเคมีหลายชนิดซึ่งอาจเป็นขั้นตอนที่ซับซ้อนสำหรับผู้ที่ไม่คุ้นเคยปุ๋ยสารละลายเข้มข้นเหมาะกับผู้ที่ต้องการปลูกพืชจำนวนน้อยเพื่องานอดิเรกปุ๋ยประเภทนี้มักไม่เหมาะสำหรับผู้ปลูกเพื่อการค้าเนื่องจากมีต้นทุนที่สูงเกินไป

ภาพที่ 2.4 ปุ๋ยที่ใช้ในการเตรียมสารละลายธาตุอาหารพืช ภาพซ้ายคือปุ๋ยมหธาตุนิยมใช้ชนิดบรรจุกระสอบเนื่องจากต้องใช้ในปริมาณมากส่วนภาพขวาคือปุ๋ยจุลธาตุ (ยกเว้นปุ๋ยบรรจุกระสอบ)อาจใช้สารเคมีสำหรับห้องปฏิบัติการ หรือสารที่ผลิตเพื่อใช้เป็นปุ๋ยโดยเฉพาะ (ในภาพคือ Fe-DTPA)

ภาพที่ 2.5 ปุ๋ยสารละลายเข้มข้น มีหลายขนาดบรรจุเพื่อตอนสนองต่อความต้องการใช้ที่แตกต่างกันของผู้ปลูกผู้ผลิตมักผลิตเป็นชุด (สารละลาย AB หรือ ABC) ซึ่งผู้ใช้จะต้องซื้อทั้งชุดแล้วนำมาผสมกันตามสัดส่วนที่ผู้ผลิตกำหนดนอกจากธาตุอาหารพืชแล้วผู้ผลิตอาจเติมสารมีสีลงไปเพื่อป้องกันไม่ให้ผู้ใช้สับสนและอาจช่วยยืดอายุการเก็บรักษา

ที่มา : agri.wu.ac.th/msomsak/Soilless/Chapter05/NutSolution.htm

ตารางที่ 2.2 สารเคมีที่นิยมมาใช้เตรียมสารละลายธาตุอาหารและความเข้มข้นของธาตุอาหารที่เป็นองค์ประกอบ

ธาตุอาหาร	ความเข้มข้นของธาตุอาหาร	
$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	11.8% N	16.9% Ca
$5Ca(NO_3)_2.NH_4NO_3.10H_2O$	15.5% N	18.5% Ca
KNO_3	38.6% K	13.8% N
$(NH_4)SO_4$	21.2% N	24.2% S
$NH_4H_2PO_4$	12.2% N	26.9% P
KH_2PO_4	28.7% K	22.8% P
KCl	52.4% K	47.5% Cl
K_2SO_4	44.9% K	18.4% S
HNO_3	22.2% N	
H_3PO_4	31.6% P	
$CaCl_2$	36.1% Ca	63.9% Cl
$MgSO_4.7H_2O$	9.8% Mg	13.0% S
$Mg(NO_3)_2.6H_2O$	9.5% Mg	10.9% N
Fe-EDTA	ประมาณ 15% Fe	
Fe-DTPA	ประมาณ 11% Fe	
$FeSO_4.7H_2O$	11.5% Fe	20.0% S
$MnCl_2.4H_2O$	27.7% Mn	35.8% Cl
$MnSO_4.4H_2O$	24.6% Mn	14.4% S
$CuSO_4.5H_2O$	25.4% Cu	12.8% S
$ZnSO_4.7H_2O$	22.7% Zn	11.1% S
H_3BO_3	17.4% B	
$NaB_4O_7.10H_2O$	11.3% B	
$(NH_4)_6Mo_7O_2.4H_2O$	54.3% Mo	6.8% N

ที่มา :agri.wu.ac.th/msomsak/Soilless/Chapter05/NutSolution.htm

ขั้นตอนในการเตรียมสารละลายธาตุอาหารโดยสังเขปมีดังนี้

กำหนดความเข้มข้นของธาตุอาหารแต่ละธาตุในสารละลายที่ต้องการความเข้มข้นของธาตุอาหารแต่ละธาตุขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่ปลูกระบบหรือเทคนิคในการปลูก และระยะการเจริญเติบโตของพืชผู้ปลูกสามารถศึกษาได้จากแหล่งข้อมูลต่างๆถ้าไม่พบข้อมูลของพืชชนิดที่ต้องการให้ใช้ข้อมูลของพืชในกลุ่มเดียวกันหรือใช้ข้อมูลสำหรับพืชทั่วไปในกรณีที่ไม่ทราบความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับพืชที่ปลูกผู้ปลูกควรทดลองหาค่าที่เหมาะสมในภายหลัง

1. วิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารแต่ละชนิดและความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำที่ใช้เตรียมสารละลายน้ำที่ใช้เตรียมสารละลายควรนำไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการก่อนเพื่อให้ทราบสมบัติและองค์ประกอบถึงแม้ค่าที่วิเคราะห์ได้มิได้บ่งชี้ว่าน้ำจะเป็นเช่นนั้นเสมอไปทั้งนี้เพราะสมบัติและองค์ประกอบของน้ำอาจเปลี่ยนแปลงไปจากเวลาที่นำตัวอย่างไปวิเคราะห์น้ำจากแหล่งน้ำที่มีความแปรปรวนสูง อาจต้องวิเคราะห์บ่อยครั้งหรือหลีกเลี่ยงการนำมาใช้ เพื่อหลีกเลี่ยงความเสียหายที่จะเกิดกับพืช

2. ปุ๋ยและสารเคมีที่ใช้ เลือกใช้จากตารางที่ 2.2โดยพิจารณาจากปัจจัยต่าง ๆ เช่น ราคาความสะดวกในการจัดหาและคุณภาพของน้ำที่ใช้ เป็นต้นน้ำที่มีคลอไรด์สูงควรหลีกเลี่ยงการใช้ปุ๋ยที่มีคลอไรด์ เป็นองค์ประกอบหรือน้ำที่มีซัลเฟตสูงควรหลีกเลี่ยงการใช้ปุ๋ยที่มีซัลเฟต เป็นต้น

3. คำนวณสัดส่วน ความเข้มข้น และปริมาณของปุ๋ยขั้นตอนนี้อาจเป็นเรื่องยุ่งยากเกินไปผู้ปลูกอาจเลือกใช้วิธีเตรียมสารละลายธาตุอาหารโดยใช้สูตรสำเร็จที่มีผู้คำนวณไว้ให้แล้ว หรือใช้"ตารางคำนวณ"ช่วยคำนวณชนิด และสัดส่วนของปุ๋ยที่ต้องใช้

4. ละลายปุ๋ยในน้ำ ในกรณีที่ต้องการเตรียมในปริมาณไม่มากนัก เช่นเตรียมเพื่อใช้เพาะต้นกล้าหรือปลูกพืชจำนวนน้อยเกษตรกรสามารถเตรียมโดยนำปุ๋ยมาละลายน้ำให้มีความเข้มข้นเหมาะสมได้ทันทีในกรณีที่เตรียมสารละลายเพื่อปลูกพืชปริมาณมากนิยมเตรียมให้มีความเข้มข้นสูงกว่าที่ต้องการใช้จริง 10 - 200 เท่าจากนั้นจึงค่อยเจือจางให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมในภายหลังทั้งนี้เพื่อความสะดวกในการใช้งานและไม่ต้องใช้ถังเก็บสารละลายที่มีขนาดใหญ่กรณีที่เตรียมสารละลายความเข้มข้นสูง จำเป็นต้องแยกสารละลายเป็น 2 ถังเป็นอย่างน้อย เพื่อป้องกันการตกตะกอนโดยแต่ละถังบรรจุสารประกอบดังนี้

ถังที่ 1 (ถัง A) :	บรรจุสารประกอบแคลเซียมและสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก (Fe-chelate)
ถังที่ 2 (ถัง B) :	บรรจุสารประกอบซัลเฟต ฟอสเฟต แมงกานีส ทองแดง และสังกะสี
ถังที่ 3 (ถัง C) :	บรรจุสารละลายกรดหรือด่างสำหรับปรับ pH ของน้ำหรือสารละลาย

การขยายพันธุ์หญ้าหวานโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การขยายพันธุ์หญ้าหวานโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นนิยมเลี้ยงชิ้นส่วน ปลายยอด ข้อ และ ใบตาข้าง เพื่อชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากบนอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน (cytokinin) เช่น 6-benzyadenine (BA), 6-benzylaminopurine (BAP) และ kinetin จนเกิดเป็นยอดจำนวนมาก แล้วจึงนำยอดเหล่านั้นมาตัดแบ่งเป็นยอดเดี่ยวๆ แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหารชักนำรากที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบกลุ่มออกซิน (auxin) เช่น 1-naphthaleneacetic acid (NAA), 3-indolebutyric acid (IBA) และ indole acetic acid (IAA) เช่น งานวิจัยของ เฟอร์เรย์ร่า และ ฮันโดร (Ferreira and Handro) ในปี ค.ศ.1988 รายงานการเลี้ยงใบอ่อนของหญ้าหวานบนอาหารที่เติม 6-benzyadenine (BA) ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพมีแสง หรือ บนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ1-naphthaleneacetic acid (NAA) ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพมืด แล้วทำการย้ายไปเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ แล้วจึงทำการแยกยอดเดี่ยว ๆ ไปเลี้ยงบนอาหารที่เติม 3-indolebutyric acid (IBA) ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำรากต่อไป เช่นเดียวกับการเลี้ยงปลายยอดของหญ้าหวานบนอาหาร Gamborg B5 ที่เติม 6-benzylaminopurine (BAP) ร่วมกับ alpha-naphthaleneacetic acid (NAA) ในสภาพมีแสงสามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้อย่างรวดเร็ว และสามารถชักนำให้เกิดรากได้ในเวลา 2 หรือ 3 สัปดาห์ โดยการเลี้ยงบนอาหาร Gamborg B5 ที่เติม 6-benzylaminopurine (BAP) ความเข้มข้น 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมน้ำตาลซูโครส 2% (Miyagawa et al., 1986)

ชิ้นเนื้อเยื่อส่วนใบ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าหวานนั้นพบมีการรายงานจำนวนมากที่นิยมใช้เนื้อเยื่อส่วนใบเพาะเลี้ยงและสามารถชักนำให้เกิดแคลลัส ทั้งนี้เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของสูตรอาหารร่วมกับชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตและสภาพเพาะเลี้ยงที่มีแสงและไม่มีแสง เช่นพัชรินทร์ ศรีทองคำ (2537) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อน และยอดอ่อน พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดแคลลัสจากเนื้อเยื่อ

ส่วนใบอ่อนคือ ทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เสริมด้วย NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และBA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำ แคลลัสจากส่วนใบอ่อนเกิดการหวนกลับคืนเป็นต้นคือ สูตร MS ที่ใส่วิตามินตามสูตร Nitch เสริมด้วย NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสามารถชักนำให้เกิดรากได้ในอาหารสูตร MS ที่เสริมด้วย NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สภาวะที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากจากส่วนยอดอ่อนคือ อาหารสูตร MS ที่เสริมด้วย kinetin 12.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวน 60 ยอด ภายในระยะเวลา 3 เดือน และผลิตยอดจำนวนมากได้อย่างต่อเนื่อง สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากคือ สูตรMS ที่ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต และ สูตร MS ที่เสริมด้วย NAA 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการย้ายต้นหญ้าหวานที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในดิน พบว่าจะให้ต้นที่มีลักษณะสมบูรณ์ ส่วนไตรรัตน์ ประทิศ (2555) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าหวานโดยนำใบ มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงในอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 5 สัปดาห์ ชิ้นส่วนใบเมื่อนำไปเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า TDZ ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางมากที่สุดคือ 0.3 ± 0.06 เซนติเมตร แคลลัสที่ได้มีลักษณะเป็นกลุ่ม ยึดติดกันแน่น (compact) สีเขียวชุ่มน้ำและ Mohammed *et, al.*,(2006) เลี้ยงชิ้นส่วนใบ ของหญ้าหวาน บนอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ชิ้นส่วนระหว่างข้อ สามารถเกิดแคลลัสได้เร็วกว่าชิ้นส่วนข้อและใบ ชิ้นส่วนข้อและใบ เกิดแคลลัสมากที่สุดบนอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนใบบนสูตรอาหารที่แตกต่างกันพบว่าใบที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 90 เปอร์เซ็นต์และเลี้ยงแคลลัสบนอาหาร MS ที่ใส่วิตามินตามสูตร Nitsh ที่เติม NAA และ BA ความเข้มข้นอย่างละ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าแคลลัส สามารถพัฒนาไปเป็นต้นได้โดยผ่าน 2 ขั้นตอนคือ ขั้นแรกเป็นการชักนำแคลลัสให้เกิดเป็นยอดบนอาหาร MS ที่มี BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อจากนั้นย้ายยอดไปเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มี NAA และ BAP อย่างละ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำยอดให้เกิดรากและเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ (พัชรินทร์ ศรีทองคำ, 2537) แต่อาหารสูตร LS ที่มี BA อย่างเดียว 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 50เปอร์เซ็นต์ (Ferreira and Hander, 1988) นอกจากนี้การใช้อาหาร MS ที่มี NAA ร่วมกับ BAP อย่างละ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีแสงตลอดเวลานาน 2 เดือน พบว่าเกิดแคลลัสที่เกาะกันอย่างหลวม ๆ (friable callus) (Swanson, Mahady and Beecher, 1992)

มีรายงานจำนวนมากที่นิยมใช้เนื้อเยื่อหญ้าหวานส่วนใบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและสามารถชักนำให้เกิดยอดและราก โดยมีค่าเฉลี่ยการเกิดยอดและรากแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของสูตรอาหารร่วมกับชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต และสภาพการเพาะเลี้ยง ที่มีแสงและไม่มีแสงได้แก่งานวิจัยของ Ferreira andHandro ในปี 1988 รายงานการเลี้ยงใบอ่อนของหญ้าหวานบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพมีแสง หรือ บนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพมืด แล้วทำการย้ายไปเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้แล้วจึงทำการแยกยอดเดี่ยว ๆ ไปเลี้ยงบนอาหารที่เติม IBAความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำรากต่อไป เช่นเดียวกับ Pourvi, Sumita and Kotharia (2008) พบว่าอาหาร สูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.2 ไมโครโมล ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 2.8 ไมโครโมล และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ $CuSO_45H_2O$ ในอาหารเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้นเป็น 0.5 ไมโครโมล (5 เท่าของอาหาร MS) สามารถเพิ่มจำนวนของยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อได้อย่างมีนัยสำคัญและ Latha andUsha (2003) ใช้อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 8.87 ไมโครโมลร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 5.71 ไมโครโมล สามารถชักนำให้เกิดรากได้เมื่อย้ายชิ้นส่วนยอดไปเลี้ยงบนอาหารที่เติมออกซิน เมื่อทำการย้ายออกปลูกในขุยมะพร้าวพบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 70 เปอร์เซ็นต์เช่นเดียวกับ Anbazhagan *et, al.,*(2010)พบว่า สูตรผสมที่ชักนำให้เกิดยอดได้ผลดีที่สุด คือ สูตรอาหาร MS ที่เติม BA + IAA เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรและ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ การเจริญของรากจะได้ผลดีเมื่ออยู่ในอาหารสูตร Nitsch(N_6) ความเข้มข้นครึ่งเท่าที่เติม IAA เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรเมื่อย้ายต้นอ่อนหญ้าหวานลงปลูก สามารถอยู่รอดในสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติ ได้ประมาณ 82 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับ มัทนียา วังประภา (2548) พบว่าเมื่อนำใบอ่อนหญ้าหวานเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นอย่างละ 0, 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตรเลี้ยงในสภาพมีแสง 16 ชั่วโมงต่อวันและสภาพมืดตลอดเวลา พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนยอดได้โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.5 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ใบอ่อนที่เลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม BA และ NAA ความเข้มข้นอย่างละ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งในสภาพมีแสงและสภาพมืด ให้ปริมาณแคลลัสสูงสุดเช่นเดียวกับ อัครสิทธิ์ บุญส่งแท้ กัลทิมา พิชัย และวัชรี หาญเมืองใจ (2553) ได้ศึกษาเปรียบเทียบผลของ NAA และ BA ต่อการเจริญของแคลลัส โดยนำใบหญ้าหวานมาตัดเนื้อเยื่อเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญ NAA ร่วมกับ BA ที่อัตราส่วนความเข้มข้นต่างกันคือ 0:0, 0:1, 1:0, 1:1, 1:2, 2:1 และ 2:2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับรวมทั้งหมด 7 ชุดการทดลอง โดยย้ายเลี้ยงทุก 4 สัปดาห์ตั้งแต่เริ่มเกิดแคลลัสเป็นเวลา 12 สัปดาห์เมื่อนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์พบว่าทุกชุดการทดลองมี

ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญโดยพบว่าอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำการเจริญของแคลลัสเฉลี่ยสูงสุดคือมีความกว้างความยาวและน้ำหนักของแคลลัสสูงสุด เท่ากับ 1.0 ± 0.15, 1.3 ± 0.2 เซนติเมตรและ 0.027±0.008 กรัม ตามลำดับ

ชิ้นเนื้อเยื่อส่วนข้อ การใช้เนื้อเยื่อส่วนข้อในการเพาะเลี้ยงพบว่าสามารถชักนำให้เกิด multiple shoot และชักนำให้เกิดรากได้ เช่น กิตติศักดิ์ โชติกเดชาณรงค์ (2556) ได้ทำการขยายพันธุ์หญ้าหวานโดยการนำชิ้นส่วนข้อที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดของหญ้าหวานมาชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติมที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตรหรือ kinetin ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3 และ 4 มิลลิกรัมต่อลิตรหรือ TDZ ความเข้มข้น 0, 0.1,0.2, 0.3 และ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตรเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวันพบว่า kinetin 3 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากที่สุด 9.31±4.17 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อจากนั้นจึงนำชิ้นส่วนข้อที่ได้จากชุดการทดลองดังกล่าวมาชักนำให้เกิดรากโดยเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรหรือ IAA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงพบว่า NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำให้เกิดรากจำนวนมากที่สุดคือ 11.18±1.34 รากต่อยอดจากนั้น จึงนำต้นอ่อนที่ได้จากการทดลองทั้งหมดมาทำการย้ายออกปลูกในโรงเรือนเป็นเวลา 4 สัปดาห์พบว่าต้นอ่อนที่ได้จากการชักนำรากโดยไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตและชุดที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรมีอัตราการรอดชีวิต 80 เปอร์เซ็นต์แต่ต้นอ่อนที่ได้จากการชักนำรากโดยไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตมีการเจริญเติบโตสูงที่สุดภายหลังการย้ายออกปลูก เช่นเดียวกับ ไตรรัตน์ ประทิศ (2555) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหญ้าหวานโดยนำชิ้นส่วนข้อ มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงในอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนของข้อสามารถเจริญไปเป็นยอดได้มากที่สุดที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้จำนวนยอดสูงสุด 3.8 ± 0.39 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ และความสูงของต้นหญ้าหวานที่สูงที่สุดพบในชุดการทดลองที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต คือ 3.26 ± 0.46 เซนติเมตร และ Mohammed *et, al.,*(2006) เลี้ยงชิ้นส่วนข้อ และชิ้นส่วนระหว่างข้อของหญ้าหวาน บนอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ชิ้นส่วนระหว่างข้อ สามารถเกิดแคลลัสได้เร็วกว่าชิ้นส่วนข้อและใบ ชิ้นส่วนข้อและใบ เกิดแคลลัสมากที่สุดบนอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตรเช่นเดียวกับ Pourvi, Sumita andKotharia (2008) พบว่าชิ้นส่วนข้อของหญ้าหวานบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น

2.2 ไมโครโมล ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 2.8 ไมโครโมล และเพิ่มความเข้มข้นของ $CuSO_4.5H_2O$ ในอาหารเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้นเป็น 0.5 ไมโครโมล (5 เท่าของอาหาร MS) สามารถเพิ่มจำนวนของยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อได้อย่างมีนัยสำคัญ และ LathaandUsha (2003) รายงานว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 8.87 ไมโครโมลร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 5.71 ไมโครโมลสามารถชักนำให้เกิดรากได้ เมื่อย้ายชิ้นส่วนยอดไปเลี้ยงบนอาหารที่เติมออกซิน ทำการย้ายออกปลูกในขุยมะพร้าว พบว่า มีอัตราการรอดชีวิต 70 เปอร์เซ็นต์ ชิ้นส่วนข้อหญ้าหวาน ที่ชักนำให้เกิดยอดได้ผลดีที่สุด คืออาหาร MS ที่เติม BA + IAA เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรและ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ การเจริญของรากจะได้ผลดีเมื่ออยู่ในอาหารสูตร Nitsch(N_6) ความเข้มข้นครึ่งเท่า ที่เติม IAA เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นอ่อนหญ้าหวานมีอัตราการอยู่รอดในธรรมชาติได้ประมาณ 82 เปอร์เซ็นต์ (Anbazhagan *et, al.*,2008) ใช้ชิ้นส่วนข้อของหญ้าหวาน ทำการเพาะเลี้ยงแล้วเกิดยอด ตามด้วยการชักนำรากจากยอดอีกทีหนึ่ง พบว่า การชักนำยอดได้ดี คือ อาหารสูตร MS ความเข้มข้น 1 หรือ ครึ่งเท่า ที่เติม BAP หรือ kinetin ความเข้มข้นอย่างละ 0, 0.5, 1.0, และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร การชักนำรากบนอาหาร MS ความเข้มข้น 1 หรือ ครึ่งเท่า ที่เติม NAA หรือ IBA ความเข้มข้นอย่างละ 0, 0.5, 1.0, และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าชิ้นส่วนข้อสามารถชักนำให้เกิดยอดได้น้อยกว่าชิ้นส่วนปลายยอด อาหาร MS ความเข้มข้น 1 และ ครึ่งเท่ามีผลต่อการชักนำยอดเท่าๆ กัน พบว่า BAP ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุด สำหรับการชักนำให้เกิดราก พบว่าอาหาร MS ความเข้มข้น 1 เท่า สามารถชักนำให้เกิดรากได้มากกว่าความเข้มข้น ครึ่งเท่า อาหาร MS ความเข้มข้น 1 เท่าที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด ส่วนการเพาะเลี้ยงข้อของหญ้าหวานบนอาหาร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใต้ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า BA ทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ตาข้างเกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.67 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ จำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด 10 ใบต่อยอด ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.75 เซนติเมตรต่อยอด สามารถชักนำให้ปลายยอดมีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด 18 ใบต่อยอด ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 7.87 เซนติเมตรต่อยอดและพบว่า BA ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตรมีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.33 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ (มยุรา เทพสิงห์, 2547)

ชิ้นเนื้อเยื่อส่วนยอด ปลายยอด นอกจากเนื้อเยื่อส่วนใบและข้อแล้ว เนื้อเยื่อส่วนยอดก็มีรายงานว่าสามารถชักนำให้เกิด multiple shoot และรากได้เช่นกัน โดยการใช้ปริมาณและชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโต และสูตรอาหารที่แตกต่างกัน เช่น การเลี้ยงปลายยอดของหญ้าหวานบนอาหาร Gamborg B5 ที่เติม BAP ร่วมกับ NAA ในสภาพมีแสง สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้

อย่างรวดเร็ว และสามารถชักนำให้เกิดรากได้ในเวลา 2 หรือ 3 สัปดาห์ โดยการเลี้ยงบนอาหาร Gamborg B5 ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0.02มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมน้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ (Miyagawa *et,al.,* 1986)การใช้ชิ้นส่วนปลายยอด สามารถชักนำให้เกิดยอดได้เมื่อเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 8.87 ไมโครโมล ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 5.71 ไมโครโมล และสามารถชักนำให้เกิดรากได้เมื่อย้ายชิ้นส่วนยอดไปเลี้ยงบนอาหารที่เติมออกซิน ทำการย้ายออกปลูกในขุยมะพร้าวพบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 70 เปอร์เซ็นต์ (LathaandUsha, 2003) การใช้ปลายยอดของหญ้าหวานเป็นชิ้นเนื้อเยื่อที่ชักนำให้เกิดยอดได้ผลดีที่สุด คือ สูตรอาหาร MS ที่เติม BA + IAA เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรและ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ การเจริญของรากจะได้ผลดีเมื่ออยู่ในอาหารสูตร Nitsch (N_6) ความเข้มข้นครึ่งเท่าที่เติม IAA เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นอ่อนมีอัตราการอยู่รอดในธรรมชาติ ประมาณ 82 เปอร์เซ็นต์ (Anbazhagan*et, al,* 2010)เลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดของหญ้าหวานบนอาหาร MS ที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดยอดได้มากที่สุด 16.20 ยอด สำหรับการชักนำรากทำได้โดยนำยอดที่ได้ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร Nitsch (N) ที่เติม IAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดราก 11.80 รากต่อยอด ต้นอ่อนที่ได้ถูกย้ายไปปลูกในกระถางโดยใช้วัสดุปลูกเป็น ดิน:ทราย:ปุ๋ยหมัก อัตราส่วน 1:1:1 ในโรงเรือนก่อนย้ายออกไปปลูกในแปลง ต้นอ่อนรอดชีวิต 82%เช่นเดียวกับ Hossain *et, al.,* (2008) สามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากของหญ้าหวานแล้วตามด้วยการชักนำรากจากยอด โดยอาหารที่ใช้ในการชักนำยอด คือ อาหาร MS ความเข้มข้น 1 หรือ ครึ่งเท่า ที่เติม BAP หรือ kinetin ความเข้มข้นอย่างละ 0, 0.5, 1.0, และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และชักนำรากบนอาหาร MS ความเข้มข้น 1 หรือ ครึ่งเท่า ที่เติม NAA หรือ IBA ความเข้มข้นอย่างละ 0, 0.5, 1.0, และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าชิ้นส่วนปลายยอดสามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากกว่าชิ้นส่วนข้อ อาหาร MS ความเข้มข้น 1 และครึ่งเท่ามีผลต่อการชักนำยอดเท่าๆ กัน และ BAP ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุด สำหรับการชักนำให้เกิดรากพบว่าอาหาร MS ความเข้มข้น 1 เท่า สามารถชักนำให้เกิดรากได้มากกว่าความเข้มข้นครึ่งเท่า อาหาร MS ความเข้มข้น 1 เท่าที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด และ มยุรา เทพสิงห์ (2547) พบว่าปลายยอดของหญ้าหวานบนอาหาร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตรภายใต้ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า BA ทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ตาข้างเกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.67 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด 10 ใบต่อยอด ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.75 เซนติเมตรต่อยอด สามารถชักนำให้ปลายยอดมีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด 18 ใบต่อยอด ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 7.87 เซนติเมตรต่อยอด BA ที่ความเข้มข้น 2

มิลลิกรัมต่อลิตรมีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.33 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ และ Dheeranupattana,Wangprapa andJatisatienr, (2007) เลี้ยงยอดในสภาพปลอดเชื้อของหญ้าหวานบนอาหาร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นอย่างละ 0, 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพมีแสงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า อาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้เฉลี่ย 4.5 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ส่วนอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้เฉลี่ย 11 รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อ ส่วน Morini *et, al.,* (2003) เลี้ยงยอดของหญ้าหวานบนอาหาร MS ที่เติม kinetin หรือ BA ที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน สามารถชักนำให้เกิดรากบนอาหารที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มัทนียา วังประภา (2548)พบว่า เมื่อนำยอดหญ้าหวานเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นอย่างละ 0, 0.5, 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเลี้ยงยอดในสภาพมีแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน พบว่าส่วนยอดที่เลี้ยงในอาหารที่มี NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตรจะให้ยอดที่มีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 11 รากต่อชิ้นเนื้อเยื่อและDas *et al.* (2011) เพาะเลี้ยงปลายยอดหญ้าหวานบนอาหาร MS ที่เติม Kn ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวน 11.33 ยอด เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 35 วัน และเมื่อเลี้ยงยอดบนอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตสามารถชักนำให้เกิดราก 15.85 รากต่อยอด เมื่อย้ายต้นอ่อนออกปลูกในโรงเรือนที่มีการพ่นไอน้ำเพื่อรักษาความชื้น และใช้วัสดุปลูกเป็น ปุ๋ยคอก:ดิน:ทรายในอัตราส่วน 1:1:1 พบการรอดชีวิต 82.14% เมื่อย้ายออกปลูกเป็นเวลา 20 วัน

เนื้อเยื่อส่วนตาข้าง เป็นอีกชิ้นส่วนหนึ่งที่นิยมมาในการชักนำให้เกิดจำนวนยอดมาก เช่น จากการรายงานของ มยุรา เทพสิงห์ (2547) เพาะเลี้ยงตาข้างและปลายยอดของหญ้าหวาน บนอาหาร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัม/ลิตร ภายใต้ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า BA ทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 100% แต่ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้ตาข้างเกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.67 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ จำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด 10 ใบ/ยอด และความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.75 เซนติเมตร/ยอด และสามารถชักนำให้ยอด มีจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด 18 ใบ/ยอด และความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 7.87 เซนติเมตร/ยอด และพบว่า BA ที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/ลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.33 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ ส่วน Ahmed *et al.* (2007) ชักนำให้เกิดยอดจำนวน 8.75 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ จากการเพาะเลี้ยงตาข้างของหญ้าหวานบนอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kinetin ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับการชักนำให้เกิดรากบนอาหารที่เติม IBA, NAA หรือ IAA ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า อาหารที่เติม IAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุด (97.66%) จำนวน 12.10 รากต่อยอด จากนั้นนำต้น

อ่อนที่ได้ย้ายออกปลูกในถุงดำ โดยใช้ ดินกับปุ๋ยหมักอัตราส่วน 2:1 เป็นวัสดุปลูก และเติมยาฆ่าเชื้อรา Agrason ความเข้มข้น 0.1% แล้วปลูกในที่ร่มเป็นเวลา 15 วัน มีการรอดชีวิต 70% และVerma *et al.* (2011) ชักนำให้เกิดยอดจำนวน 17.5 ยอด โดยเลี้ยงชิ้นส่วนตาข้างของหญ้าหวานบนอาหาร MS ที่เติม BAP 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kn 0.5มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำยอดที่ได้มาเลี้ยงบนอาหาร MS ความเข้มข้นครึ่งเท่าที่เติม IBA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้ 69.76% และต้นอ่อนถูกย้ายออกปลูกในกระถางที่คลุมด้วยถุงพลาสติกใสเพื่อรักษาความชื้นแล้วนำไปปลูกในโรงเรือน พบว่าต้นอ่อนรอดชีวิตถึง 94.8%เช่นเดียวกับ Pourvi, Sumita andKotharia (2008) ชักนำให้เกิดตายอดจากการเลี้ยงชิ้นส่วนใบ และตา ของหญ้าหวานบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.2 ไมโครโมล ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 2.8 ไมโครโมล และเพิ่มความเข้มข้นของ $CuSO_4.5H_2O$ ในอาหารเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้นเป็น 0.5 ไมโครโมล (5 เท่าของอาหาร MS) สามารถเพิ่มจำนวนของยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อได้อย่างมีนัยสำคัญ

เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชต้นทุนต่ำ

เกตุนภา ไทยหนุ่ม และคณะ (2555) การใช้สารเคมีไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2) แทนการใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ ได้ถูกพัฒนาขึ้นมาในงานทดลองเพื่อทำการเปรียบเทียบวิธีการแบบดั้งเดิมในการ ฆ่าเชื้ออาหาร โดยใช้อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร MS (Murashige and Skoog,1962) เป็นอาหารพื้นฐาน กำหนดให้อาหารที่นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำเป็น control เปรียบเทียบกับอาหารที่เติม H_2O_2อัตราความเข้มข้น 0, 0.0025, 0.005, 0.075 และ 0.01 % (v/v) ทำการบันทึกข้อมูลการปนเปื้อนเป็นเวลา 17 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่า อาหารที่ไม่มีการฆ่าเชื้อเกิดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 5 และปนเปื้อน 100 % เมื่อสัปดาห์ที่ 11 สำหรับอาหารที่ใส่ H_2O_2 ความเข้มข้น 0.0025 % v/v เกิดการปนเปื้อน เชื้อจุลินทรีย์ขึ้นในสัปดาห์ที่ 13 และมีการปนเปื้อนเชื้ออย่างต่อเนื่องในสัปดาห์ต่อๆไป ส่วนอาหารที่ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ อาหารที่เติม H_2O_2 ความเข้มข้น 0.005, 0.075 และ 0.01 % v/v ไม่พบการปนเปื้อนเกิดขึ้นในระยะเวลา 17 สัปดาห์ ส่วนจักรกริช อนันตศรัณย์ และคณะ (2554) ทำการเพาะเลี้ยงเมล็ดกล้วยไม้ในอาหารสังเคราะห์ เป็นการขยายพันธุ์ กล้วยไม้ ที่เมล็ดไม่มีอาหารสะสมให้เจริญเติบโตเป็นต้นสมบูรณ์ในอาหารสังเคราะห์ โดยทั่วไปการทำให้อาหารปลอดเชื้อจุลินทรีย์จะต้องใช้หม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ (autoclave) คุณภาพดี แต่มีราคาสูง จึงได้ทดลองใช้อุปกรณ์อื่นที่มีราคาถูกทดแทน ได้แก่ การใช้หม้อนึ่งไอน้ำที่ใช้ในครัวเรือนทั่วไป โดยเปรียบเทียบการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตร MS ให้ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำกับหม้อนึ่งไอน้ำที่ระยะเวลาตั้งแต่ 20

นาที ถึง 3 ชั่วโมง พบว่าการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ในอาหารด้วยหม้อนึ่งไอน้ำ ระยะเวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง อาหารจะปลอดเชื้อจุลินทรีย์ ได้ เหมือนกับการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ เป็นเวลา 20 นาที จะเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้นาน 2 สัปดาห์ เมื่อนำอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ และหม้อนึ่งไอน้ำนาน 1 ชั่วโมง และ 1 ชั่วโมง 30 นาที มาเลี้ยงต้นอ่อนเอื้องพร้าว พบว่าอัตราการติดเชื้อจุลินทรีย์ ไม่ มีความแตกต่างกัน เอื้องพร้าวที่เลี้ยงในอาหารที่ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำ นาน 1 ชั่วโมง มีการเจริญเติบโตดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากคุณค่าอาหารที่เสื่อมไปด้วยความร้อนน้อยกว่าดังนั้นการนึ่งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยหม้อนึ่งไอน้ำสามารถใช้ทดแทนการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำได้ ซึ่งสามารถนำวิธีการนี้เผยแพร่ให้ประชาชนทั่วไปนำไปขยายพันธุ์กล้วยไม้ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออย่างง่ายได้ เช่นเดียวกับนิรมล รังสยาธรและคณะ (2551) อาหารแข็งดัดแปลงสูตร Vacin and Went, 1949 สำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สามารถทำให้ปลอดเชื้อได้ด้วยเตาไมโครเวฟที่ใช้ในครัวเรือน โดยทำการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร VW ที่ระดับพลังงาน defrost, 360 และ 600 วัตต์ เป็นเวลา 3, 5, 10 นาที พบว่าเตาไมโครเวฟสามารถเตรียมอาหารที่ปลอดเชื้อได้ถึงร้อยละ 93 ซึ่งที่ระดับพลังงานตั้งแต่ 360 วัตต์ สามารถฆ่าเชื้อในอาหารได้ร้อยละ 100 โดยใช้เวลาอย่างน้อย 5 นาที เมื่อทำการฆ่าเชื้อ และเมื่อนำอาหารที่ทำให้ปลอดเชื้อด้วยไมโครเวฟไปเพาะเมล็ดกล้วยไม้ 2 ชนิด ได้แก่ เอื้องเมี่ยง (Dendrobium gratiosissimum Rchb. F.) เอื้องเงิน (Dendrobium draconis Rchb. F.) พบว่าการงอก และการเจริญของกล้วยไม้ทั้งสองชนิดในอาหารที่ทำให้ปลอดเชื้อด้วยไมโครเวฟไม่แตกต่างจากอาหารที่ให้ปลอดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ และพงศ์ยุทธ นวลบุญเรือง และคณะ (2551) ทำการศึกษาการดัดแปลงอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อราคาต่ำ โดยการใช้ปุ๋ย (สูตร 30-20-10) และเครื่องดื่มบำรุงกำลัง 3 ยี่ห้อ (กระทิงแดง เอ็ม 150 และฉลาม) ทดแทนธาตุอาหารและวิตามิน ทำการทดลองโดยใช้ปุ๋ย 2 กรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร และใช้ความเข้มข้นของเครื่องดื่มบำรุงกำลัง 3 ระดับคือ 10 15 และ 20 มิลลิลิตรต่อลิตร เปรียบเทียบกับ MS เสริมด้วย BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยทำการเพาะเลี้ยงต้นกระชายดำ ทำการเก็บข้อมูลด้านการเจริญเติบโต ผลการทดลองพบว่า เมื่อทำการทดลองเป็นเวลา 60 วัน จำนวนยอด จำนวนใบ จำนวนราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ส่วนอาหารสูตรดัดแปลงที่เสริมด้วย เอ็ม150 10 มิลลิลิตรต่อลิตร ให้ความสูงต้นสูงสุด (8.05 เซนติเมตร) ในขณะที่สูตรอาหารดัดแปลงที่เสริมด้วย เอ็ม150 20 มิลลิลิตรต่อลิตร ให้ความยาวรากมากที่สุด (2.95 เซนติเมตร) ส่วนสุกัลยา ศิริฟองนุกูล และคณะ (2549) รายงานการเพาะเลี้ยง hairy root ของเจตมูลเพลิงแดงที่ได้จากการชักนำโดยเชื้อ *Agrobacterium rhizogenes*สายพันธุ์ K599 ในอาหารเหลวอย่างง่ายสูตรต่าง ๆ ทดลองโดยการใช้ปุ๋ยเกล็ดการค้า ปริมาณ 2 และ 4 กรัมต่อลิตร ร่วมกับวิตามินสูตร MS วิตามิน

413928

สูตร B5 และ วิตามินรวมการค้าปริมาณต่างๆ เปรียบเทียบกับอาหารเหลวสูตร MS และสูตร MS ที่ใช้วิตามินสูตร B5 โดยทุกสูตรทดลองใช้น้ำตาลซูโครส 3% และปรับ pH 5.7 เพาะเลี้ยงในสภาพมืด ที่อุณหภูมิ 25±2 °C บนเครื่องเขย่าความเร็ว 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 เดือน โดยเปลี่ยนถ่ายอาหารใหม่ทุกเดือนพบว่า hairy root ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรปุ๋ยเกล็ดการค้าร่วมกับวิตามินรวมทุกความเข้มข้น มีการเจริญเติบโตดีและผันแปรตามปริมาณวิตามินรวมที่ใช้ แต่ Growth Index โดยรวมยังมีค่าน้อยกว่า hairy root ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS และสูตร MS-B5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อวิเคราะห์ปริมาณสาร plumbagin ใน hairy root พบว่า hairy root ที่เพาะเลี้ยงในปุ๋ยเกล็ดการค้ามีปริมาณสาร plumbagin ต่อน้ำหนักกรัมของน้ำหนักแห้งมากกว่า hairy root ที่ เพาะเลี้ยงในสูตร MS และ MS-B5เมื่อคำนวณผลผลิตรวมของสาร plumbagin ต่อการใช้อาหาร 1 ล. เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือนพบว่าอาหารสูตร MS และสูตร MS-B5 ให้ผลผลผลิตสูงที่สุดคือ 47.14 และ 43.79 มก. ตามลำดับ ส่วนสูตรปุ๋ย 2 ก./ล. ร่วมกับวิตามินสูตร MS ให้ผลผลิตเท่ากับ 43.03 มก. และสูตรปุ๋ย 2 ก./ล. ร่วมกับวิตามินรวม 2 มล.ให้ผลผลิตเท่ากับ 40.34 มก. ซึ่งใกล้เคียงกับสูตร MS และ MS-B5 แต่เมื่อพิจารณาต้นทุนการผลิตอาหารต่อหน่วยปริมาณสารที่ได้แล้วพบว่า การผลิตโดยใช้ปุ๋ยเกล็ด 2 ก./ล. ร่วมกับวิตามินรวม 2 มล. มีต้นทุนการผลิตสาร plumbagin ต่ำที่สุด เช่นเดียว สุรวิทย์ สิมะรักษ์ อำไพ (2543) ศึกษาการป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ด้วยสารเคมีในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยอาหารสูตร MS ใช้สารเคมี 4 คู่ดังนี้ Pen-V กับ Grisoflvin, Pen-V กับ sodium thiosulphate, Potassium iodide กับ Sodium thiosulphate และ Copper sulphate กับ Iodine โดยใช้ความเข้มข้น 25-100, 25-100, 25-300 และ 1-300 mg/l ตามลำดับ ผลการวิจัยพบว่า สารเคมีที่ใช้ได้ดีคือคู่ของ Potassium iodide กับ Sodium thiosulphate ที่ความเข้มข้น 10 กับ 10-80 mg/l โดยสารเคมีที่มีความเข้มข้นดังกล่าว ไม่มีผลต่อการยับยั้งการงอกของเมล็ด