คู่มือ
การขยายพันธุ์หน้าวัวโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

โดย

รังสิมา อัมพวัน
ทิพย์สุดา ปุกมณี
พินธรา สำราญสกุล
เดือนสว่าง ดวงบาล
สายบัว เต๊ะจ๊ะ
กิติศักดิ์ วงค์ชัย

ฝ่ายปรับปรุงและพัฒนาพันธุกรรมพืชและสัตว์
สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

คำนำ

คู่มือการขยายพันธุ์หน้าวัวโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนี้ สามารถนำเทคโนโลยีไปปฏิบัติแล้วได้ผลจริง ตั้งแต่ขั้นตอนการคัดเลือกส่วนของยอดและหน่ออ่อน เพื่อนำไปใช้เป็นชิ้นส่วนตั้งต้นในการขยายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการ จนสามารถผลิตต้นได้ปริมาณมาก และนำออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกได้เป็นอย่างดี ซึ่งเป็นการวางแผนการผลิตสำหรับการจำหน่ายหน้าวัวได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คณะผู้จัดทำหวังว่าคู่มือฉบับนี้จะเป็นประโยชน์แก่ผู้สนใจศึกษา หรือทดลองใช้ชิ้นส่วนยอดและหน่ออ่อนเป็นชิ้นส่วนตั้งต้นในการขยายพันธุ์ในพืชชนิดอื่นๆ ตลอดจนผู้ที่สนใจการผลิตต้นพันธุ์ในปริมาณมาก สำหรับการจำหน่ายหรือวางแผนการผลิตด้วยตนเอง

คณะผู้จัดทำ

กันยายน 2559

สารบัญ

	หน้า
ความสำคัญ	1
ลักษณะการเจริญเติบโตทั่วไป	2
ปัญหาการขยายพันธุ์	3
การขยายพันธุ์หน้าวัวโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	4
- การกระตุ้นการเกิดต้น	4
- การเพิ่มปริมาณต้น	6
- การออกราก	7
- การย้ายปลูก	8
บรรณานุกรม	9

หน้าวัว (Anthurium)

ความสำคัญ

หน้าวัวจัดเป็นไม้ตัดดอกเศรษฐกิจที่มีความสำคัญชนิดหนึ่ง เนื่องจากลักษณะของดอกที่มีสีสันงดงาม สะดุดตา ก้านดอกยาวแข็งแรง (ภาพ 1a) และมีอายุการใช้งานนานกว่า 10 วัน (ใบเฟิร์น, 2543) จึงนิยมนำมาปักแจกัน และประดับในงานพิธีต่างๆ อีกทั้งหน้าวัวยังเป็นที่ต้องการของตลาดโลก โดยในต่างประเทศมีการผลิตในระดับอุตสาหกรรม (ภาพ 2a และ b) และมีการซื้อขายดอกหน้าวัวผ่านตลาดประมูลในประเทศเนเธอร์แลนด์ ในปี พ.ศ. 2544 มีมูลค่าสูงถึงประมาณ 59 ล้านดอก คิดเป็นมูลค่า 1,400 ล้านบาท (นเรศ, ม.ป.ป.) ต่อมาปี พ.ศ. 2552 ได้รับความนิยมในรูปของไม้ดอกกระถาง (pot plant) (ภาพ 1b) เป็นอันดับ 2 ใน 10 อันดับที่จำหน่ายได้สูงสุด โดยมีส่วนแบ่งการตลาด 8% รองจากฟาแลนอพซิส (49%) (The Swedish Chambers of Commerce, 2011) ส่วนในประเทศไทย การผลิตหน้าวัวภายในประเทศยังไม่เพียงพอที่จะตอบสนองความต้องการของตลาดได้ นอกจากนี้ยังพบว่าดอกหน้าวัวสามารถทำรายได้ต่อหน่วยพื้นที่สูงที่สุดคือ 140,000 บาทต่อไร่ต่อปี ปัจจุบันคาดว่าในประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกประมาณ 60-70 ไร่ หรือประมาณ 6-7 แสนต้น ซึ่งปลูกในอัตรา 8,000-10,000 ต้นต่อไร่ (เกษตรศาสตร์, 2540) และด้วยราคาต่อดอกที่ค่อนข้างสูงโดยเฉลี่ยแล้วประมาณ 20-30 บาท ต่อดอก จึงทำให้ธุรกิจการผลิตหน้าวัวมีการขยายตัวเพิ่มมากขึ้น

ภาพที่ 1 ลักษณะดอกของหน้าวัวที่ผลิตเป็น (a) ไม้ตัดดอก และ (b) ไม้ดอกกระถาง
ที่มา: (a) ดอกหน้าวัว (2556) (b) Tropical Plant (2013)

ภาพที่ 2 การผลิตหน้าวัวตัดดอกระดับอุตสาหกรรมในต่างประเทศ (a) และ (b)
ที่มา: โรงเรือนปลูกหน้าวัวเพื่อการค้า ประเทศเนเธอร์แลนด์

ลักษณะการเจริญเติบโตทั่วไป

หน้าวัว (*Anthurium andraeanum*) เป็นไม้ดอกไม้ประดับในวงศ์ Araceae สกุล Anthurium ซึ่งมีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปอเมริกาใต้ หน้าวัวจัดเป็นไม้ตัดดอกประเภทเนื้ออ่อน ลำต้นมีข้อสั้นๆ การเจริญเติบโตค่อนไปทางไม้เลื้อย อาจเป็นต้นเดี่ยวๆ หรือเป็นกอก็ได้ ต้นหนึ่งจะมีใบ 4-8 ใบ ใบหน้าวัวมีลักษณะรูปร่างต่างๆ กัน ส่วนมากจะมีลักษณะค่อนข้างยาวรีคล้ายรูปหัวใจ ปลายแหลมยาว เส้นกลางใบและเส้นขอบใบเห็นได้ชัด ใบอ่อนในระยะแรกจะม้วนกลมเหมือนใบบอนมีสีน้ำตาลอ่อน และเจริญเป็นใบแก่สมบูรณ์ใช้ระยะเวลา 15-20 วัน ดอกหน้าวัวเกิดจากตาเหนือก้านใบซึ่งเกิดขึ้นพร้อมๆ กับใบอ่อน แต่ตาดอกจะมีการพัฒนาขึ้นหลังจากที่ใบอ่อนเจริญไปเป็นใบแก่ที่สมบูรณ์แล้ว (อดุลย์, 2535) ดอกหน้าวัวประกอบด้วย จานรองดอก และปลีหรือช่อดอก จานรองดอก (spathe) คือ ใบประดับที่มีสีสันสวยงาม มีรูปร่างคล้ายใบติดอยู่ที่โคนปลี มีสีสันแตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์ ขนาดของจานรองดอกจะมีขนาดเล็กหรือใหญ่ขึ้นอยู่กับขนาดของต้น ชนิดพันธุ์ และการเลี้ยงดู จานรองดอกที่สวยงามนอกจากสีสันที่สวยสะดุดตาแล้วยังขึ้นอยู่กับความย่นหรือร่องของจานรองดอกซึ่งเรียกว่า ร่องน้ำตา ปลีหรือช่อดอก (spadix) คือ ส่วนที่แท้จริงของดอก ประกอบด้วยก้านช่อซึ่งมีดอกย่อยเล็กเรียงอัดแน่นอยู่บนปลี ดอกย่อยเหล่านี้เป็นดอกสมบูรณ์เพศ เมื่อจานรองดอกเริ่มคลี่ออกจะเห็นช่อดอกมีสีเหลืองอ่อนหรือสีปนแดงแล้วแต่ชนิดของพันธุ์ เมื่อจานรองดอกบานเต็มที่ ดอกที่อยู่โคนปลีจะเริ่มบานก่อนและไล่ไปจนสุดปลี เกสรตัวผู้มักจะบานหลังเกสรตัวเมีย ดังนั้นหน้าวัวส่วนใหญ่ในสภาพธรรมชาติมักไม่ค่อยมีโอกาสผสมตัวเอง ยกเว้นบางพันธุ์เท่านั้น หน้าวัวมีระบบรากพิเศษ ซึ่งจะแตกตามบริเวณข้อลำต้น รากงอกใหม่จะมีสีแดงเส้นผ่าศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตร อุ้มน้ำได้มาก ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อนและสีน้ำตาลเมื่อรากแก่ขึ้น ซึ่งรากมักเจริญเรื่อยๆ และแตกแขนงเป็นจำนวนมาก โดยการเจริญของรากและปริมาณของรากขึ้นอยู่กับคุณลักษณะประจำพันธุ์ของหน้าวัวแต่ละพันธุ์ด้วย (อดุลย์, 2535 และ สุรวิช, 2537)

หน้าวัวที่ปลูกโดยทั่วไปมักจะเกิดจากพันธุ์ลูกผสมระหว่างพันธุ์พื้นเมืองด้วยกัน ซึ่งแบ่งเป็น 2 ชนิดใหญ่ๆ ซึ่งแต่ละชนิดก็มีหลายสายพันธุ์ (เกษตรศาสตร์, 2540) ชนิดแรก คือ *Anthurium andraeanum* มีจานรองดอกขนาดใหญ่มีสีแตกต่างกันไป ปลีวัดจากโคนยาวประมาณ 3-4 นิ้ว มีสีเหลือง เมื่อเกสรตัวเมียเริ่มบานจะ

เปลี่ยนเป็นสีขาว สามารถแบ่งพันธุ์ได้ตามสีของจานรองดอก คือ พันธุ์ที่มีจานรองดอกสีแดง ในเมืองไทย ได้แก่ พันธุ์ดวงสมร จักรพรรดิ กรุงธน กษัตริย์ศึก ฯลฯ พันธุ์ที่มีจานรองดอกสีส้ม ได้แก่ พันธุ์ผกาวลี ดาราทอง โพธิ์ทอง สุหรานากง ฯลฯ พันธุ์ที่มีจานรองดอกสีชมพู ได้แก่ พันธุ์ศรียาตรา ศรีสง่า จักรเพชร ฯลฯ และพันธุ์ที่มีจานรองดอกสีขาว ได้แก่ พันธุ์ขาวนายหวาน ขาวคุณหนู ขาวเศวต ฯลฯ (วัชรา, 2542) ชนิดที่สอง คือ *Anthurium scherzerianum* เป็นหน้าวัวที่นิยมปลูกเป็นไม้กระถาง มีจานรองดอกสีแตกต่างกัน ลำต้นสูงประมาณ 1-2 ฟุต ขนาดใบกว้าง 1 ฟุต ปลีมีลักษณะบิดงอหรือเป็นเกลียว แต่ไม่นิยมปลูกในเมืองไทยเพราะต้องการความเย็นและความชื้นสูง ในสหรัฐอเมริกานิยมใช้หน้าวัวพันธุ์สีแดงและสีแดงอ่อนมาก คือ ประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอีก 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นสีชมพูและสีขาว ในประเทศฝรั่งเศสและสวิสเซอร์แลนด์นิยมสีแดงและสีส้ม (วัชรา, 2542) ส่วนหน้าวัวที่ปลูกเป็นการค้าที่สำคัญของไทย คือ พันธุ์ดวงสมร ที่มีจานรองดอกสีแดงเข้มรูปหัวใจ ร่องน้ำตาย่นและลึก หูดอกชิดเท่ากันทั้งสองด้าน ซึ่งเป็นที่ต้องการของตลาดและขายได้ราคาดี (สุรวิช, 2537)

ปัญหาการขยายพันธุ์

หน้าวัวเป็นไม้ดอกเมืองร้อน แต่การพัฒนาพันธุ์ทำในประเทศเมืองหนาว ดังนั้น จึงไม่ใช่ทุกพันธุ์ที่สามารถปลูกได้ในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย (ใบเฟิร์น, 2543) ศูนย์ส่งเสริมและผลิตพันธุ์พืชสวนกระบี่จึงได้ทำการทดสอบ ศึกษาและปรับปรุงพันธุ์หน้าวัว โดยการนำพันธุ์ต่างประเทศมาพัฒนาพันธุ์ให้เพิ่มมากขึ้นในปี 2536 เป็นต้นมา

การขยายพันธุ์โดยวิธีปกติของหน้าวัว สามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ 1) การขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ใช้สำหรับปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้พันธุ์ใหม่ ซึ่งโอกาสที่หน้าวัวจะติดเมล็ดเองมีน้อยเนื่องจากเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียบานไม่พร้อมกัน ต้องมีการช่วยผสมพันธุ์ให้ จึงจะทำให้เกิดผลขึ้นได้ โดยแต่ละผลจะมีเมล็ด 1-3 เมล็ด ใช้เวลา 6 เดือน ตั้งแต่ผสมพันธุ์จนถึงเมล็ดแก่ และต้องใช้เวลานานถึง 2-3 ปี ต้นจึงจะให้ผลผลิต (เกษตรศาสตร์, 2540) 2) การตัดยอด (shoot cutting) เป็นวิธีที่เกษตรกรนิยมขยายพันธุ์กันมาก ทำโดยตัดยอดให้มีใบติดมาด้วย 3-4 ใบ และมีราก 2-3 ราก เพื่อให้ยอดที่นำไปปลูกตั้งตัวได้เร็ว การตัดควรเหลือใบไว้ที่ต้นเดิม 1-2 ใบ เพื่อให้เกิดหน่อใหม่ได้เร็วและสมบูรณ์ การขยายพันธุ์นี้มีข้อเสีย คือ ได้จำนวนต้นที่น้อยและเสี่ยงต่อการเข้าทำลายของเชื้อจากบาดแผลที่ทำการตัด (อดุลย์, 2535) 3) การแยกหน่อ สามารถทำได้เพียงในบางพันธุ์ที่มีหน่อมากเท่านั้น เช่น พันธุ์ดาราทอง และจากหน่อที่เกิดจากตาที่ทำการตัดยอดออกไป ซึ่งต้องรอให้เกิดรากใหม่ 1-3 รากก่อนจึงจะแยกไปปลูกใหม่ได้ 4) การชำต้น การขยายพันธุ์โดยวิธีนี้ทำได้โดยตัดลำต้นที่ยาวออกเป็นท่อนๆ แต่ละท่อนมีข้อประมาณ 2-3 ข้อ นำไปชำในทรายหรืออิฐทุบก้อนเล็กๆ ที่ชื้นอยู่เสมอ โดยตาจะแตกและเกิดเป็นต้นใหม่ตามข้อหรือปล้องนั้น ซึ่งไม่ใช่ทุกพันธุ์ที่มีลำต้นยาวเสมอไป นอกจากนี้ยังได้ต้นในปริมาณไม่มากพออีกด้วย (อดุลย์, 2535) จากปัญหาที่กล่าวมาทั้งหมดนี้จึงทำให้การขยายพันธุ์หน้าวัวด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุด ที่สามารถผลิตหน้าวัวเป็นจำนวนมาก รวมทั้งควบคุมคุณภาพได้ภายในระยะเวลาอันสั้น ในปัจจุบันการผลิตกล้าหน้าวัวในระดับอุตสาหกรรมจะใช้วิธีการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทั้งสิ้น

การขยายพันธุ์หน้าวัวโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

1. การกระตุ้นการเกิดต้น

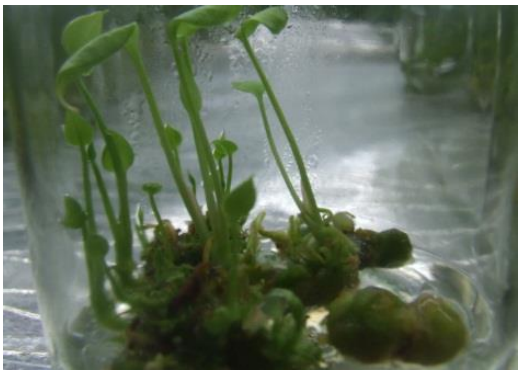
การเตรียมชิ้นส่วนตั้งต้น

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหน้าวัว สามารถนำส่วนต่างๆ ของต้นที่เป็นเนื้อเยื่ออ่อนมาเป็นชิ้นส่วนตั้งต้นได้หลายส่วน คือ ส่วนยอด หน่ออ่อน และใบอ่อน ซึ่งการจะนำชิ้นส่วนใดมาเป็นชิ้นส่วนตั้งต้นนั้นต้องมีการพิจารณา เช่น การใช้ยอดหรือหน่ออ่อน จะมีจำนวนชิ้นส่วนตั้งต้นน้อยเมื่อเทียบกับการใช้ใบอ่อนมาเพาะเลี้ยงจะได้จำนวนต้นที่มากกว่า และการเพาะเลี้ยงหน่ออ่อนมีข้อเสีย คือ จะเกิดการปนเปื้อนมากกว่าการใช้ชิ้นส่วนอื่นๆ เนื่องจากชิ้นส่วนอยู่ติดกับวัสดุปลูก ในขณะที่ใบอ่อนจะใช้เวลาในการกระตุ้นให้เกิดต้นนานกว่า และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดการกลายพันธุ์สูง แต่การใช้ส่วนยอดหรือหน่ออ่อนก็มีวิธีการแก้ไขเพื่อให้เกิดต้นจำนวนมากและลดการผันแปรในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ (Hamidah *et al*., 1994) โดยการชักนำให้ชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงเกิดต้นที่มีลักษณะพิเศษออกไปจากต้นปกติ คือ ชักนำให้เกิดเป็น retarded shoot ซึ่งต้นที่ได้โดยวิธีการนี้จะมีขนาดเล็กมาก ขนาดของใบลดลงจนแทบมองไม่เห็นเป็นใบ และลำต้นมีขนาดเล็กลง แต่ยังสามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า อีกทั้งยังมีจำนวนของต้นมากบนชิ้นส่วนที่ทำการกระตุ้น และสามารถทำเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้เมื่อย้ายไปเลี้ยงบนอาหารที่เหมาะสม

การฟอกฆ่าเชื้อในส่วนของยอด และหน่ออ่อน เมื่อตัดแยกชิ้นส่วนจากลำต้นมา ให้ตัดและเลาะกาบใบออกให้หมด แล้วล้างด้วยน้ำสะอาดที่ไหลผ่านตลอดเวลา จากนั้นใช้สำลีชุบแอลกอฮอล์ 70% เช็ดชิ้นส่วนให้ทั่ว โดยเฉพาะบริเวณซอกใบ และหากหน่ออ่อนมีความยาวมาก ให้ตัดออกเป็นส่วนๆ ที่มีขนาดพอเหมาะ นำชิ้นส่วนไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 10% ที่มีส่วนผสมของ tween 20 ความเข้มข้น 0.01% นาน 10 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ทำการตัดแต่งชิ้นส่วนที่ได้รับความเสียหายจากการฟอกฆ่าเชื้อทิ้ง นำชิ้นส่วนยอดเลี้ยงบนอาหาร ส่วนหน่ออ่อนให้ตัดแยกยอดและข้อออกจากกัน แล้วเลี้ยงบนอาหารเช่นเดียวกับชิ้นส่วนยอด เป็นเวลา 4-6 สัปดาห์ ก็จะเกิดต้น retarded shoot (ภาพที่ 3)

ภาพที่ 3 ลักษณะการเกิดต้น retarded shoot จากการเพาะเลี้ยงยอดและหน่ออ่อนของหน้าวัว
ที่มา: ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ส่วนการใช้ใบอ่อนเป็นชิ้นส่วนตั้งต้น ให้นำใบอ่อนที่ยังไม่คลี่หรือในระยะที่ใบอ่อนยังม้วนอยู่ มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำ เช็ดด้วยแอลกอฮอล์ 70% และหากใบอ่อนมีความยาวมากให้ตัดออกเป็นส่วนๆ ที่มีขนาดพอเหมาะ นำชิ้นส่วนไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายเมอคิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้น 0.1% ที่มีส่วนผสมของ tween 20 ความเข้มข้น 0.01% นาน 5 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ทำการตัดแต่งเนื้อเยื่อที่ได้รับความเสียหายจากการฟอกฆ่าเชื้อทิ้ง จากนั้นตัดชิ้นส่วนใบออกเป็นส่วนๆ ขนาด 0.5x0.5 เซนติเมตร และให้มีส่วนของเส้นใบติดมาด้วย วางเลี้ยงบนอาหารตามแนวราบ เป็นเวลา 4-8 สัปดาห์ จะเกิดแคลลัส จากนั้นย้ายแคลลัสเลี้ยงในอาหารเพิ่มปริมาณต้นจะชักนำการเกิดต้น (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 ลักษณะการเกิดแคลลัสและต้นจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนของหน้าวัว
ที่มา: ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

อาหารชักนำการเกิดต้น

อาหารพื้นฐานที่ใช้ชักนำการเกิดต้นของชิ้นส่วนตั้งต้น ทั้งส่วนยอด หน่ออ่อน และใบอ่อน จะใช้สูตรเดียวกัน คือ อาหารสูตร MS (1962) ดัดแปลง แต่จะแตกต่างกันที่สารควบคุมการเจริญเติบโต เนื่องจากวัตถุประสงค์ของการเลี้ยงที่ไม่เหมือนกัน คือ ส่วนยอดและหน่ออ่อนจะเกิดต้นโดยตรง ในขณะที่ใบอ่อนเกิดแคลลัส แล้วจึงกระตุ้นให้เกิดต้นภายหลัง โดยอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS (1962) ดัดแปลงนี้มีความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักครึ่งหนึ่งของสูตรอาหาร (1/2MS) ยกเว้น NH_4NO_3 ที่ใช้เพียง 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนธาตุอาหารรองใช้เต็มสูตร และประกอบด้วย Thiamine.HCl 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร NaFeEDTA 25 มิลลิกรัมต่อลิตร Myo-inositol 100 มิลลิกรัมต่อลิตร Adenine sulfate 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ถ้าหากเพาะเลี้ยงยอดหรือหน่ออ่อนให้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต คือ TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ถ้าเพาะเลี้ยงใบอ่อนให้เติม 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D 0.1-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นเติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร และวุ้น 8 กรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 5.8 นำอาหารไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส หรือที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลานาน 15 นาที

สภาพการเพาะเลี้ยง

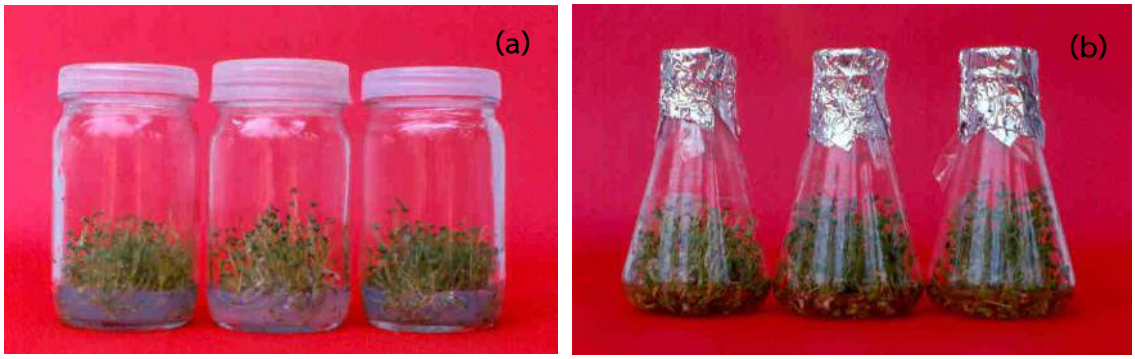
นำขวดอาหารเพาะเลี้ยงที่มีชิ้นส่วนยอดและข้อไปวางไว้ในห้องที่มีการควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ด้วยหลอดฟลูออเรสเซนส์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ส่วนขวดเพาะเลี้ยงที่มีชิ้นส่วนใบอ่อน ให้นำไปไว้ในที่มืดเป็นเวลานาน 4-6 สัปดาห์ จะเกิดแคลลัสบวมพองขึ้นบริเวณรอยตัดของเนื้อเยื่อและเส้นใบ จากนั้นให้ย้ายแคลลัสไปเลี้ยงบนอาหารการเพิ่มปริมาณต้น สูตร MS (1962) เพื่อชักนำการเกิดต้น ซึ่งในระยะนี้ให้นำขวดเพาะเลี้ยงไปวางไว้ในสภาพแวดล้อมเช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดและข้อ ทำการเลี้ยงนานประมาณ 4-8 สัปดาห์ แคลลัสจะพัฒนาไปเป็นต้นอ่อนจำนวนมาก จากนั้นจึงตัดย้ายเพื่อเพิ่มปริมาณต้นต่อไป

2. การเพิ่มปริมาณต้น

นำต้นอ่อนที่ได้จากการกระตุ้นให้เกิดต้นมาตัดย้ายเพื่อทำการเพิ่มปริมาณต้น โดยการตัดแยกยอดและข้อไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร ซึ่งการขยายพันธุ์หน้าวัวโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยทั่วไป เป็นการเพาะเลี้ยงต้นให้เกิดจากตาข้าง (axillary shoot culture)

การเพาะเลี้ยงตาข้าง เป็นการเพาะเลี้ยงโดยอาศัยวิธีการและสูตรอาหารที่กระตุ้นการเจริญของตาข้าง ซึ่งเป็นเทคนิคสำหรับการผลิตต้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การเพิ่มจำนวนต้นทำได้โดยนำตาข้างจากต้นที่เกิดขึ้นใหม่มาทำการเพาะเลี้ยงและทำซ้ำไปเรื่อยๆ เพื่อเพิ่มจำนวน โดยนำส่วนตาข้างมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS (1962) ที่ประกอบด้วย Thiamine.HCl 1 มิลลิกรัมต่อลิตร Nicotinic acid 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Pyridoxine.HCl 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร NaFeEDTA 35 มิลลิกรัมต่อลิตร Myo-inositol 100 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร วุ้น 8 กรัมต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต KIN 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็นกรดเป็นด่างเท่ากับ 5.8

การเพิ่มปริมาณต้นหน้าวัวนอกจากเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งแล้ว ยังสามารถเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวได้ด้วยเช่นกัน ซึ่งภาชนะในการเพาะเลี้ยงนั้นใช้ได้ทั้งในขวดขนาด 4 หรือ 8 ออนซ์ หรือขวดชมพู่ ขนาด 125 หรือ 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร ซึ่งหากใช้ภาชนะขนาดใหญ่ต้องระมัดระวังการปนเปื้อนที่อาจจะเกิดขึ้นได้ในระหว่างการปฏิบัติงาน ดังนั้นหากยังไม่ชำนาญมีข้อแนะนำว่าควรเริ่มจากภาชนะขนาดเล็กก่อน การเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสามารถวางขวดเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าหรือวางนิ่งบนชั้นวางขวดเลี้ยงต้นไม้ก็ได้ โดยมีข้อแม้ว่าขวดเพาะเลี้ยงที่วางบนชั้นวางขวดเลี้ยงต้นไม้นั้น ต้นจากตาข้างที่ทำการเพาะเลี้ยงจะต้องมีขนาดความสูงมากกว่าอาหารเหลวในขวด และมีจำนวนต้นมากพอที่จะพยุงต้นไม่ให้จมลงในอาหารเหลว ซึ่งการเพิ่มปริมาณต้นโดยใช้อาหารเหลวนี้ต้นจะสามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้มากกว่าอาหารแข็ง (ภาพที่ 5) จากนั้นจึงทำการย้ายเนื้อเยื่อทุกๆ 6 สัปดาห์



ภาพที่ 5 การเพิ่มปริมาณต้นหน้าวัวในสภาพปลอดเชื้อ
(a) เลี้ยงบนอาหารแข็ง
(b) เลี้ยงในอาหารเหลว

ที่มา: ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

3. การออกราก

เมื่อทำการเพิ่มปริมาณต้นหน้าวัวได้จำนวนมากแล้ว จึงตัดส่วนยอดที่มีขนาดความสูง 4-5 เซนติเมตร ไปเลี้ยงในอาหารกระตุ้นการเกิดราก ซึ่งเป็นอาหารสูตร MS (1962) ดัดแปลงสูตรเดียวกับระยะเพิ่มปริมาณต้น แต่ไม่มีการเติม KIN จะเติมเฉพาะกลุ่มออกซินที่ใช้ในการเร่งรากเท่านั้น โดยใช้ IAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และสภาพอาหารที่ใช้เป็นอาหารเหลว โดยบรรจุอาหารเหลว ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ในขวดขนาด 4 ออนซ์ หรือขนาด 120 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วใส่ชิ้นส่วนยอดจำนวน 10 ชิ้นส่วน นำขวดเพาะเลี้ยงไปวางบนเครื่องเขย่าหรือวางบนชั้นเลี้ยงต้นไม้ ได้เช่นเดียวกับระยะการเพิ่มปริมาณต้นในอาหารเหลว หลังจากเลี้ยงนาน 1 เดือน ต้นจะยืดยาวขึ้นและแทงรากออกมา จึงย้ายต้นออกปลูกจากขวดต่อไป (ภาพที่ 6)

ภาพที่ 6 การชักนำการออกรากของต้นหน้าวัว จำนวน 10 ต้นต่อขวด ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว นาน 4 สัปดาห์

ที่มา: ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

4. การย้ายปลูก

นำต้นหน้าวัวออกรากในอาหารเหลวมาแยกต้นออกจากกัน แล้วล้างในน้ำสะอาด จำนวน 2 ครั้ง คัดขนาดของต้น แล้วปลูกในกระถางดินเผาที่มีส่วนผสมของวัสดุปลูก คือ อิฐทุบ กาบมะพร้าวที่หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ และถ่านก้อนเล็กที่มีการแช่น้ำจนเปียกชุ่ม โดยปลูกเป็นกลุ่มเนื่องจากหน้าวัวเป็นพืชที่ต้องการความชื้นสูงจึงจะเจริญเติบโตได้ดี (ภาพที่ 7a) หรือปลูกลงในถาดหลุมขนาด 35x55 เซนติเมตร มีจำนวน 104 หลุม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหลุม 4 เซนติเมตร และลึก 4 เซนติเมตร โดยใช้เปลือกในของกาบมะพร้าวที่มีขนาดบางและทุบจนอ่อน หรือเส้นใยมะพร้าว แช่น้ำจนเปียกชุ่มมาห่อหุ้มส่วนรากของต้นหน้าวัว แล้วปลูกลงในถาดหลุมปลูก จากนั้นทำการปรับสภาพต้นเนื่องจากต้นที่ย้ายออกจากขวดใหม่ๆ ควรให้ความชื้นสัมพัทธ์สูงและความเข้มแสงต่ำในระยะแรกๆ แล้วจึงค่อยๆ ลดความชื้นสัมพัทธ์ลงให้อยู่ในสภาพที่พอเหมาะ และเพิ่มความเข้มแสงให้เพียงพอต่อการเจริญเติบโต เลี้ยงในสภาพเช่นนี้จนครบ 2 เดือน หรือสังเกตว่าต้นแข็งแรงและโตพอสมควร จึงย้ายลงกระถางเดี่ยวเพื่อเลี้ยงให้เจริญเติบโตต่อไป (ภาพที่ 7b-d)

ภาพที่ 7 การย้ายต้นหน้าวัวออกปลูกและการปรับสภาพต้น

(a) ต้นที่นำออกปลูกพร้อมทั้งปรับสภาพต้น

(b) ต้นที่ผ่านการปรับสภาพต้นแล้ว และย้ายปลูกลงกระถาง

(c) ต้นกล้าที่สมบูรณ์

(d) ต้นพร้อมจำหน่าย

ที่มา: (a) และ (b) โรงเรือนสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

(c) และ (d) โรงเรือนปลูกหน้าวัวเพื่อการค้า ประเทศเนเธอร์แลนด์

บรรณานุกรม

เกษตรศาสตร์. 2540. หน้าวัว. **ข่าวสารเกษตรศาสตร์** 40(6): 16-25.

นเรศ ศิริเกษร. (บรรณาธิการ). ม.ป.ป. **Anthurium.** เชียงใหม่: สิรินาฎการพิมพ์. 116 น.

ใบเฟิร์น. 2543. หน้าวัวไม้ตัดดอกอนาคตไกลที่ไทยน่าจะพัฒนาสู่ระดับโลก. **เคหการเกษตร** 24(12): 58-69.

วัชรา ปาละ. 2542. ศูนย์ส่งเสริมฯ กระบี่เร่งรวบรวมศึกษาหน้าวัวสู่เกษตรกรหวังแชร์ตลาดในนอก. **เมืองเกษตร** 11(125): 53-58.

สุรวิช วรรณไกรโรจน์. 2537. ไม้ดอกสกุลหน้าวัว. **ข่าวกองทุนสงเคราะห์การทำสวนยาง** 32(127): 20-25.

อดุลย์ ใจไว. 2535. หน้าวัวไม้ตัดดอกทำเงิน. **เคหการเกษตร** 16(2): 105-111.

Hamidah, M., P.C. Debergh and A.G. Abdul Karim. 1994. Mass propagation of *Anthurium andraeanum* through meristemoid clusters and retarded shoot. **Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent.** 59(4b): 2491-2493.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant.** 15(3): 473-479.

The Swedish Chambers of Commerce. 2011. **Market Report Focus on the EU and Swedish Market: Floricultural Products.** [Online]. Available http://chambertradesweden.se/wp-content/uploads/2012/12/Flowers_EU_final_webb.pdf (20 May 2013).