การขยายพันธุ์ว่านเข้าพรรษา (*Globba annamensis* Gagnep.) ในหลอดทดลองเพื่อการอนุรักษ์พืชหายากในประเทศไทย

In Vitro Propagation of *Globba annamensis* Gagnep. for Conservation of Rare Plant Species in Thailand

สุกัญญา นนทะลี[1] สุรพล แสนสุข[2,3] และ ปิยะพร แสนสุข[1,3*]

[1]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ต.ขามเรียง อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

[2]สถาบันวิจัยวลัยรุกขเวช มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ต.ขามเรียง อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

[3]หน่วยวิจัยอนุกรมวิธานพืชและสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังและการประยุกต์ใช้ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม 44150

[*]Corresponding Author, E-mail: pcornukaempferia@yahoo.com

บทคัดย่อ

ว่านเข้าพรรษามีศักยภาพปลูกเป็นไม้ประดับ ในธรรมชาติพบค่อนข้างน้อย สถานภาพเป็นพืชหายากในประเทศไทย นำว่านเข้าพรรษามาขยายพันธุ์ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลอง โดยนำต้นอ่อนว่านเข้าพรรษาขนาดประมาณ 1 ซม. มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนิน (BA, TDZ และ Kinetin) ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 มก./ล. ฮอร์โมนกลุ่มออกซิน (IBA, IAA และ NAA) ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1 มก./ล. และฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนิน (BA และ TDZ) ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 มก./ล. ร่วมกับฮอร์โมน NAA ความเข้มข้น 1 มก./ล. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดยอดและราก พบว่าต้นอ่อนว่านเข้าพรรษาที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 3 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยมากที่สุด 5.33 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และต้นอ่อนว่านเข้าพรรษาที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4 มก./ล ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยมากที่สุด 21.50 ราก/ชิ้นส่วนพืช

ABSTRACT

Globba annamensis Gagnep. Has an ornamental potential. It was rarely found in natural habitat. The status of this plant is rare species. *In vitro* propagation of *G. annamensis* by tissue culture technique was investigated. Microshoots of *G. annamensis* (1 cm in length) were

cultured on Murashige and Skoog (MS) (1962) medium supplemented with various concentrations (0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 mg/l) of cytokinin hormone (BA, TDZ and Kinetin), different concentrations (0, 0.1, 0.5 and 1 mg/l) of auxin hormone (IBA, IAA and NAA), and 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 and 5 mg/l of BA and TDZ in combination with 1 mg/l of NAA for eight weeks to induce shoot and root formation. The microshoots of *G. annamensis* cultured on MS medium supplemented with 3 mg/l TDZ produced the maximum number of shoots (5.33 shoots per explant) and the maximum number of root was observed in the MS medium supplemented with 4 mg/l BA and 1 mg/l NAA (21.50 roots per explant).

คำสำคัญ: ว่านเข้าพรรษา การขยายพันธุ์พืช พืชหายาก การอนุรักษ์

Keywords: *Globba annamensis* Gagnep., Propagation, Rare plant, Conservation

บทนำ

ว่านเข้าพรรษา *(Globba annamensis* Gagnep.) (รูปที่ 1) เป็นพืชในสกุลหงส์เหิน (*Globba* L.) เป็นสกุลที่มีความหลายหลากมากเป็นอันดับที่ 3 ในพืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) (ปิติมา, 2557) พืชวงศ์ขิงเป็นไม้ล้มลุกอยู่ในกลุ่มพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (mono-cotyledonous plant) ทั่วโลกมีประมาณ 52 สกุล 1,300 ชนิด ปัจจุบันในประเทศไทยพบพืชวงศ์ขิงประมาณ 26 สกุล 300 ชนิด (Larsen and Larsen, 2006) นิยมปลูกพืชวงศ์ขิงทั้งในประเทศและต่างประเทศ ว่านเข้าพรรษามีสถานภาพเป็นพืชหายาก พบเฉพาะในป่าเต็งรังทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนของประเทศไทย อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร อำเภอโขงเจียม จังหวัดอุบลราชธานี ต่างประเทศพบในสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว และเวียดนาม ออกดอกช่วงเดือนกรกฎาคมถึงเดือนสิงหาคม (สุรพล, 2554) ว่านเข้าพรรษาเป็นพืชสมุนไพร และมีศักยภาพใช้ปลูกเป็นไม้ดอกไม้ประดับได้ เนื่องจากใบประดับมีสีแดงและดอกมีสีเหลือง รูปร่างดอกคล้ายนางพญาหงส์

พืชสกุลหงส์เหินทั่วโลกพบประมาณ 100 ชนิด พบในประเทศไทย 40 ชนิด (ปิติมา, 2557) พืชสกุลหงส์เหินบางชนิดมีหน่อย่อย (bulbils) หรือหัวย่อยที่สามารถเจริญไปเป็นต้นใหม่ ดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศ ดอกและเกสรเพศผู้มีลักษณะสง่างามคล้ายหงส์ พืชหลายชนิดในสกุลหงส์เหินเป็นพืชเศรษฐกิจ เช่น *G. magnifica* และ *G. winitii* เป็นพืชที่มีความสวยงาม ทั้งในรูปไม้ตัดดอก และไม้กระถาง มีใบประดับขนาดใหญ่เรียงตัวกันอย่างเป็นระเบียบ สีของใบประดับมีหลายสี ได้แก่ สีขาว เขียว ชมพูอ่อน ชมพูเข้ม ม่วง ม่วงอ่อน ม่วงเข้ม และแดง เป็นต้น จังหวัดสระบุรีนำช่อดอก *G. winitii* มาใช้ประโยชน์ในงานพิธีทางศาสนาคือประเพณีตักบาตรดอกไม้ในวันเข้าพรรษา อีกทั้งหลายชนิดที่มีสรรพคุณทางสมุนไพร โดยนำดอกมาต้มดื่มรักษาวัณโรค (ปรัชญา และคณะ, 2554) กระทือ (*G. marantina*) ใบใช้รักษาอาการปวดหูและโรคตา (Reena et al., 2015) จากการรวบรวมเอกสารรวมทั้งตรวจสอบสถานภาพพืชกับบัญชีแดงของสหภาพเพื่อการอนุรักษ์ธรรมชาติ (International Union for Conservation of Nature, IUCN) หรือบัญชีแดงประเทศไทย (Thailand Red List) รวมทั้งจากการ

รายงานของ สุรพล (2554) พบพืชสกุลหงส์เหินหลายชนิดที่จัดเป็นพืชหายากและพืชถิ่นเดียวในประเทศไทย ได้แก่ *G. flagellaris* และ *G. laeta* และพืชสกุลหงส์เหินที่จัดเป็น พืชหายาก ได้แก่ *G. annamensis, G. fragilis, G. panicoides, G. racemosa* และ *G. winitii*

เนื่องจากในปัจจุบันว่านเข้าพรรษาถูกคุกคามจากภัยพิบัติทางธรรมชาติหรือมนุษย์ที่ทำให้พื้นที่ป่าลดลง และพื้นที่ต่างๆ เช่น ทุ่งนา และพื้นที่บางส่วนของถนนถูกทำลายและในธรรมชาติว่านเข้าพรรษามีจำนวนค่อนข้างน้อย โดยทั่วไปว่านเข้าพรรษาสามารถขยายพันธุ์โดยการใช้เหง้าซึ่งมีข้อจำกัดหลายด้าน เช่น ฤดูกาล เนื่องจากมีการเจริญเติบโตได้ดีในฤดูฝน และมีการพักการเจริญเติบโตในฤดูแล้ง และพบการเกิดโรคในเหง้า จึงทำให้เพิ่มจำนวนได้น้อย ทำให้ไม่เพียงพอต่อความต้องการในการนำมาใช้ประโยชน์ นอกจากนี้ว่านเข้าพรรษายังมีเหง้าขนาดเล็ก จำนวนตาหน่อต่อต้นค่อนข้างน้อย ทำให้การขยายพันธุ์ตามธรรมชาติมีน้อยมาก จากสาเหตุดังข้างต้นจึงได้อนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิงหายาก ได้แก่ ว่านเข้าพรรษา ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในหลอดทดลองเพื่อเพิ่มจำนวนว่านเข้าพรรษาให้มากขึ้นและเป็นการอนุรักษ์พรรณพืชชนิดนี้ไว้ไม่ให้สูญหายและมีไว้ใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนต่อไป

รูปที่ 1 ว่านเข้าพรรษา *(G. annamensis* Gagnep.) ก. ต้น และ ข. ดอก

วิธีการดำเนินการวิจัย

นำหน่อย่อย (bulbils) ของว่านเข้าพรรษา ที่เก็บจากจังหวัดสกลนคร มาล้างผ่านน้ำประปาให้สะอาดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ฉีดพ่นด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) ความเข้มข้น 70% เป็นระยะเวลา 15 นาที จากนั้นนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite) ความเข้มข้น 0.15% หยด Tween 20 จำนวน 1-2 หยด แช่ไว้เป็นเวลา 15 นาที (เขย่าเป็นครั้งคราว) และย้ายไปฟอกฆ่าเชื้อต่อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.10% เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที นำหน่อย่อยมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige & Skoog (MS) (1962) ที่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 2 มก./ล. เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ จากนั้นนำต้นอ่อนว่านเข้าพรรษาที่ปราศจากเชื้อมาปรับสภาพในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อลดอิทธิพลของฮอร์โมน TDZ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ แล้วจึงนำไปทำการทดลองดังต่อไปนี้

การทดลองที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นของฮอร์โมนไซโทไคนิน (BA, TDZ และ Kinetin) ต่อการเกิดยอดและราก

นำต้นอ่อนว่านเข้าพรรษาขนาด 1 ซม. มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA, TDZ และ Kinetin ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 มก./ล. ทำการทดลอง 10 ซ้ำ เพาะเลี้ยงขวดละ 1 ชิ้นส่วนพืช จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมง/วัน ด้วยหลอดไฟไวท์ฟลูออร์เรสเซ็นต์ ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกลักษณะการเจริญเติบโต จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย

การทดลองที่ 2 ศึกษาความเข้มข้นของฮอร์โมนออกซิน (IBA, IAA และ NAA) ต่อการเกิดยอดและราก

นำต้นอ่อนของว่านเข้าพรรษาขนาด 1 ซม. มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA, IAA และ IBA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1 มก./ล. ทำการทดลอง ละ 10 ซ้ำ เพาะเลี้ยงขวดละ 1 ชิ้นส่วนพืช ทำการเพาะเลี้ยงในสภาพเดียวกันกับการทดลองที่ 1 บันทึกลักษณะเจริญเติบโต จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ยและความยาวรากเฉลี่ย

การทดลองที่ 3 ศึกษาความเข้มข้นของฮอร์โมนไซโทไคนิน (BA และ TDZ) ร่วมกับฮอร์โมนออกซิน (NAA) ต่อการเกิดยอดและราก

นำต้นอ่อนของว่านเข้าพรรษาขนาด 1 ซม. มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA และ TDZ ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 และ 1 มก./ล. ทำการทดลองละ 10 ซ้ำ เพาะเลี้ยงขวดละ 1 ชิ้นส่วนพืช ทำการเพาะเลี้ยงในสภาพเดียวกันกับการทดลองที่ 1 บันทึกลักษณะการเจริญเติบโตจำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยตาราง ANOVA และวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรม Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) (version 16 for Windows)

ผลการวิจัย

ผลของความเข้มข้นฮอร์โมนไซโทไคนิน (BA, TDZ และ Kinetin) ต่อการเกิดยอดและราก

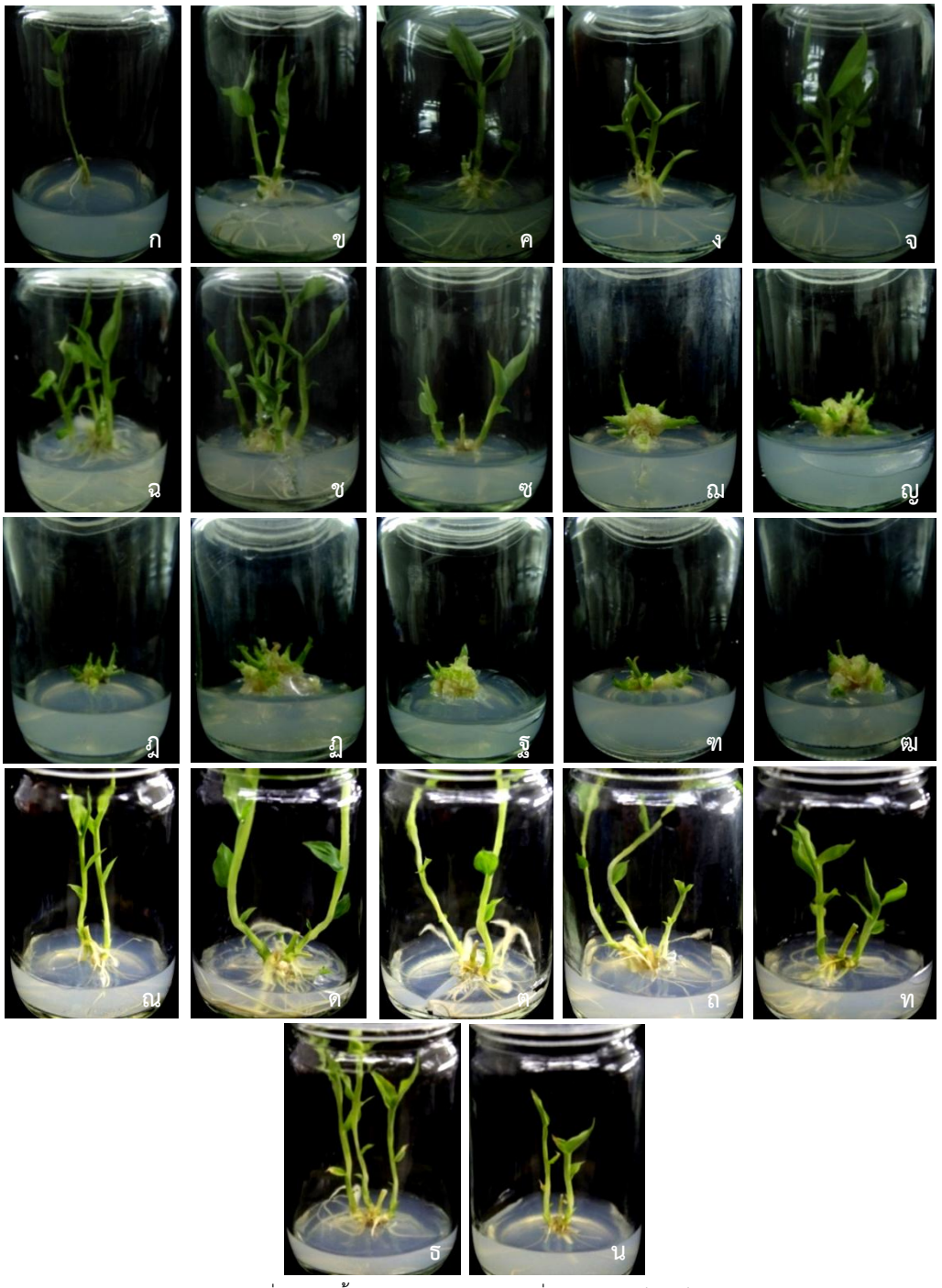
เมื่อนำต้นอ่อนว่านเข้าพรรษาขนาด 1 ซม. มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนไซโทไคนิน ได้แก่ BA, TDZ และ Kinetin ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 มก./ล. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนว่านเข้าพรรษาที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 3 มก./ล. มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 5.33 ยอด/ชิ้นส่วนพืช (ตารางที่ 1) ต้นอ่อนว่านเข้าพรรษามีลักษณะลำต้นเล็ก สั้น ใบสีเขียวขนาดเล็ก ไม่เกิดราก (รูปที่ 2 ฏ) ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ความเข้มข้น 6 มก./ล. มีจำนวนยอดเฉลี่ย 3.30 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 4.26 ซม. และมีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 14.40 ราก/ชิ้นส่วนพืช เมื่อปริมาณฮอร์โมน Kinetin เพิ่มขึ้นจะมีจำนวนยอดเพิ่มขึ้น ลักษณะต้นผอม ยาว มีสีเขียวอ่อน ใบสีเขียว มีใบ 3-4 ใบ รากมีสีขาวและยาว ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มก./ล. มีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 13.90 ราก/ชิ้นส่วนพืช และมีความยาวยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 2.89 ซม. อาหารสูตร MS ที่เติม BA

5 มก./ล. มีจำนวนยอดเฉลี่ย 4.80 ยอด/ชิ้นส่วนพืช (ตารางที่ 1) ลักษณะต้นสูง อวบ ใบขนาดใหญ่ สีเขียวเข้มมีใบ 3-4 ใบ รากยาว สีขาว มีจำนวนมาก จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าจำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ยมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 1 ผลของฮอร์โมนไซโทไคนิน (Kinetin, BA และ TDZ) ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ต่อการชักนำต้นอ่อนว่านเข้าพรรษาให้เกิดยอดและรากเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

BA (มก./ล.)	TDZ (มก./ล.)	Kinetin (มก./ล.)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
0	0	0	1.80±0.29^{gh}	3.90±0.38^{cdef}	7.50±1.60^{b}	1.81±0.37^{bcde}
0.5	0	0	3.00±0.30^{cdefghi}	2.59±0.31^{de}	11.40±1.80^{a}	2.14±0.13^{bcde}
1	0	0	2.60±0.34^{efgh}	2.84±0.28^{cde}	12.40±1.46^{a}	2.35±0.14^{bcd}
2	0	0	2.50±0.34^{efgh}	2.18±0.25^{e}	5.10±0.89^{c}	1.48±0.23^{f}
3	0	0	4.10±0.82^{abcde}	3.44±0.34^{abcd}	13.90±1.22^{a}	2.89±0.16^{a}
4	0	0	3.30±0.65^{bcdefgh}	3.17±0.39^{bcd}	11.50±1.26^{a}	2.40±0.11^{bcd}
5	0	0	4.80±0.84^{ab}	2.73±0.27^{cde}	13.90±2.10^{a}	2.14±0.14^{bcde}
6	0	0	2.70±0.30^{defgh}	2.97±0.55^{bcde}	5.50±1.61^{b}	1.51±0.27^{f}
0	0.5	0	4.50±0.67^{abc}	1.02±0.11^{f}	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{h}
0	1	0	4.70±0.37^{ab}	0.63±0.06^{f}	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{h}
0	2	0	4.30±0.68^{abcd}	0.56±0.07^{f}	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{h}
0	3	0	5.33±0.60^{a}	0.70±0.06^{f}	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{h}
0	4	0	3.88±0.35^{abcde}	0.60±0.04^{f}	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{h}
0	5	0	3.70±0.42^{bcdefg}	0.74±0.08^{f}	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{h}
0	6	0	4.10±0.38^{abcde}	0.43±0.03^{f}	0.00±0.00^{c}	0.00±0.00^{h}
0	0	0.5	1.88±0.30^{gh}	2.62±0.39^{de}	5.13±1.60^{b}	0.96±0.18^{g}
0	0	1	2.20±0.36^{fgh}	4.17±0.48^{a}	10.70±2.20^{a}	1.96±0.27^{cdef}
0	0	2	1.50±0.22^{h}	3.70±0.37^{abc}	6.40±1.22^{b}	1.50±0.25^{f}
0	0	3	2.90±0.38^{cdefgh}	3.19±0.20^{bcd}	11.70±1.05^{a}	1.91±0.13^{f}
0	0	4	2.70±0.52^{defgh}	3.57±0.34^{abcd}	10.50±1.77^{a}	1.99±0.15^{bcde}
0	0	5	2.80±0.33^{defgh}	3.93±0.30^{ab}	11.60±1.17^{a}	2.46±0.17^{b}
0	0	6	3.30±0.26^{bcdeg}	4.26±0.21^{a}	14.40±1.58^{a}	2.13±0.08^{bcde}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMR



รูปที่ 2 ต้นอ่อนว่านเข้าพรรษาเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนไซโทไคนิน (BA, TDZ และ Kinetin) ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

(ก. MS (control) ข. BA 0.5 มก./ล. ค. BA 1 มก./ล. ง. BA 2 มก./ล. จ. BA 3 มก./ล. ฉ. BA 4 มก./ล.
ช. BA 5 มก./ล. ซ. BA 6 มก./ล. ฌ. TDZ 0.5 มก./ล. ญ. TDZ 1 มก./ล. ฎ. TDZ 2 มก./ล. ฏ. TDZ 3 มก./ล.
ฐ. TDZ 4 มก./ล. ฑ. TDZ 5 มก./ล. ฒ. TDZ 6 มก./ล. ณ. Kinetin 0.5 มก./ล. ด. Kinetin 1 มก./ล. ต. Kinetin 2 มก./ล.
ถ. Kinetin 3 มก./ล. ท. Kinetin 4 มก./ล. ธ. Kinetin 5 มก./ล. น. Kinetin 6 มก./ล.)

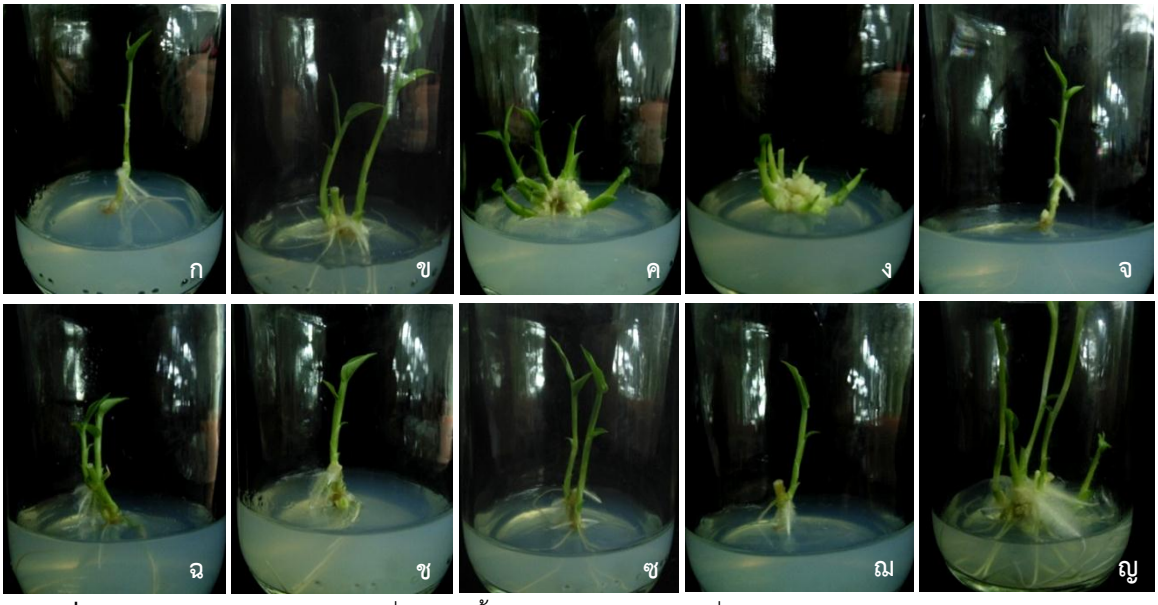
ผลของความเข้มข้นฮอร์โมนออกซิน (IBA, IAA และ NAA) ต่อการเกิดยอดและราก

เมื่อนำต้นอ่อนว่านเข้าพรรษาขนาด 1 ซม. มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน IBA, IAA และ NAA ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1 มก./ล. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มก./ล. มีจำนวนยอดเฉลี่ย 2.60 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และมีความยาวยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 4.80 ซม. (ตารางที่ 2) ต้นสั้นสีเขียว ใบขนาดเล็ก (รูปที่ 3 ญ) จำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 20.60 ราก/ชิ้นส่วนพืช และมีความยาวรากเฉลี่ยสูงที่สุด 2.54 ซม. เมื่อปริมาณฮอร์โมน NAA เพิ่มขึ้นรากจะมีความยาวเพิ่มขึ้น ลักษณะรากแข็งแรง ยาว สีขาวจำนวนมาก (รูปที่ 4 ญ) ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA 0.5 มก./ล. มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 4.38 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ลำต้นสั้นสีเขียว ใบขนาดเล็ก อาหารสูตร MS ที่เติม IBA 0.1 มก./ล. มีจำนวนรากเฉลี่ย 9.20 ราก/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ย 1.30 ซม. เมื่อปริมาณฮอร์โมน IBA ลดน้อยลง จะชักนำให้เกิดรากและความยาวรากเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 2) (รูปที่ 4 ข-ง) ลักษณะรากสั้น สีขาว ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IAA 1 มก./ล. มีจำนวนรากเฉลี่ย 8.11 ราก/ชิ้นส่วนพืช ความยาวรากเฉลี่ย 1.62 ซม. รากมีลักษณะยาว สีขาว มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.67 ยอด/ชิ้นส่วนพืช เมื่อปริมาณฮอร์โมน IAA เพิ่มขึ้น สามารถชักนำให้เกิดราก ความยาวราก และจำนวนยอดเพิ่มขึ้น ลักษณะยอดมีสีเขียวและยาว (ตารางที่ 2) จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าจำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ยมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 2 ผลของฮอร์โมนออกซิน (IBA, IAA และ NAA) ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน ต่อการชักนำต้นอ่อนว่านเข้าพรรษาให้เกิดยอดและรากเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

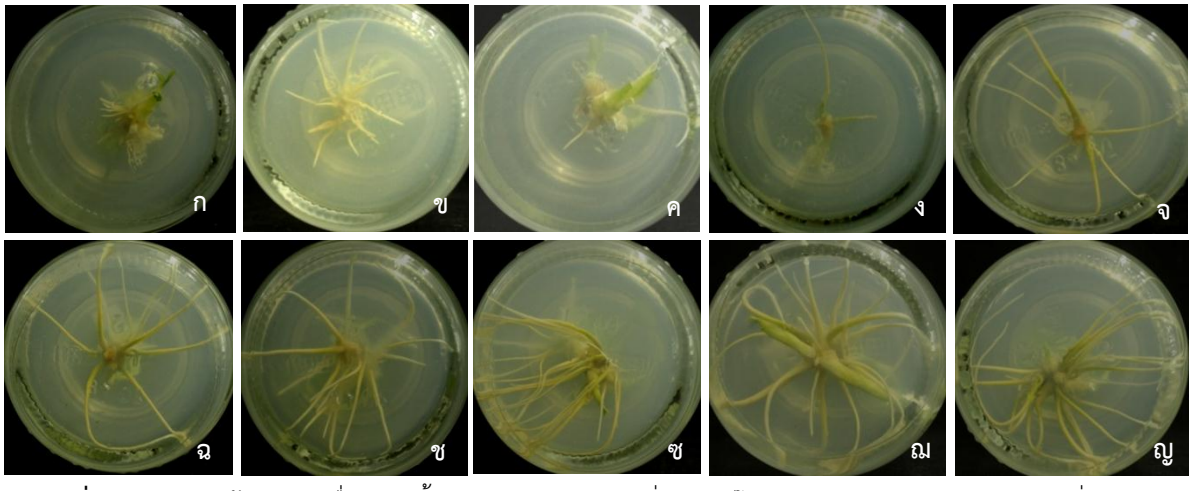
IBA (มก./ล.)	IAA (มก./ล.)	NAA (มก./ล.)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.)
0	0	0	4.90±0.66^{de}	1.11±0.10^{d}	1.30±0.15^{d}	3.00±0.30^{bc}
0.1	0	0	9.20±1.09^{c}	1.30±0.20^{d}	3.10±0.57^{b}	2.58±0.50^{cd}
0.5	0	0	2.71±1.23^{ef}	0.42±0.17^{e}	4.38±0.75^{a}	2.09±0.30^{cd}
1	0	0	1.25±0.62^{f}	0.39±0.18^{e}	4.22±0.40^{a}	1.40±034^{d}
0	0.1	0	6.44±0.87^{cd}	1.54±0.18^{cd}	1.33±0.17^{cd}	2.62±0.27^{bcd}
0	0.5	0	7.38±0.75^{cd}	1.59±0.17^{bcd}	1.50±0.19^{cd}	3.06±0.56^{bc}
0	1	0	8.11±1.40^{cd}	1.62±0.12^{bcd}	1.67±0.24^{bcd}	2.77±0.45^{bc}
0	0	0.1	15.70±1.31^{b}	2.09±0.15^{ab}	2.40±0.27^{cd}	3.61±0.40^{ab}
0	0	0.5	14.00±1.36^{b}	1.84±0.23^{bc}	1.88±0.13^{cde}	3.61±0.43^{ab}
0	0	1	20.60±1.87^{a}	2.54±0.14^{a}	2.60±0.37^{bc}	4.80±0.40^{a}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย แบบ DMRT



รูปที่ 3 ต้นอ่อนว่านเข้าพรรษาเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนออกซิน (IBA, IAA และ NAA) ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

(ก. MS (control) ข. IBA 0.1 มก./ล. ค. IBA 0.5 มก./ล. ง. IBA 1 มก./ล. จ. IAA 0.1 มก./ล. ฉ. IAA 0.5 มก./ล. ช. IAA 1 มก./ล. ซ. NAA 0.1 มก./ล. ฌ. NAA 0.5 มก./ล. ญ. NAA 1 มก./ล.)



รูปที่ 4 รากว่านเข้าพรรษาเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนออกซิน (IBA, IAA และ NAA) ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

(ก. MS (control) ข. IBA 0.1 มก./ล. ค. IBA 0.5 มก./ล. ง. IBA 1 มก./ล. จ. IAA 0.1 มก./ล. ฉ. IAA 0.5 มก./ล. ช. IAA 1 มก./ล. ซ. NAA 0.1 มก./ล. ฌ. NAA 0.5 มก./ล. ญ. NAA 1 มก./ล.)

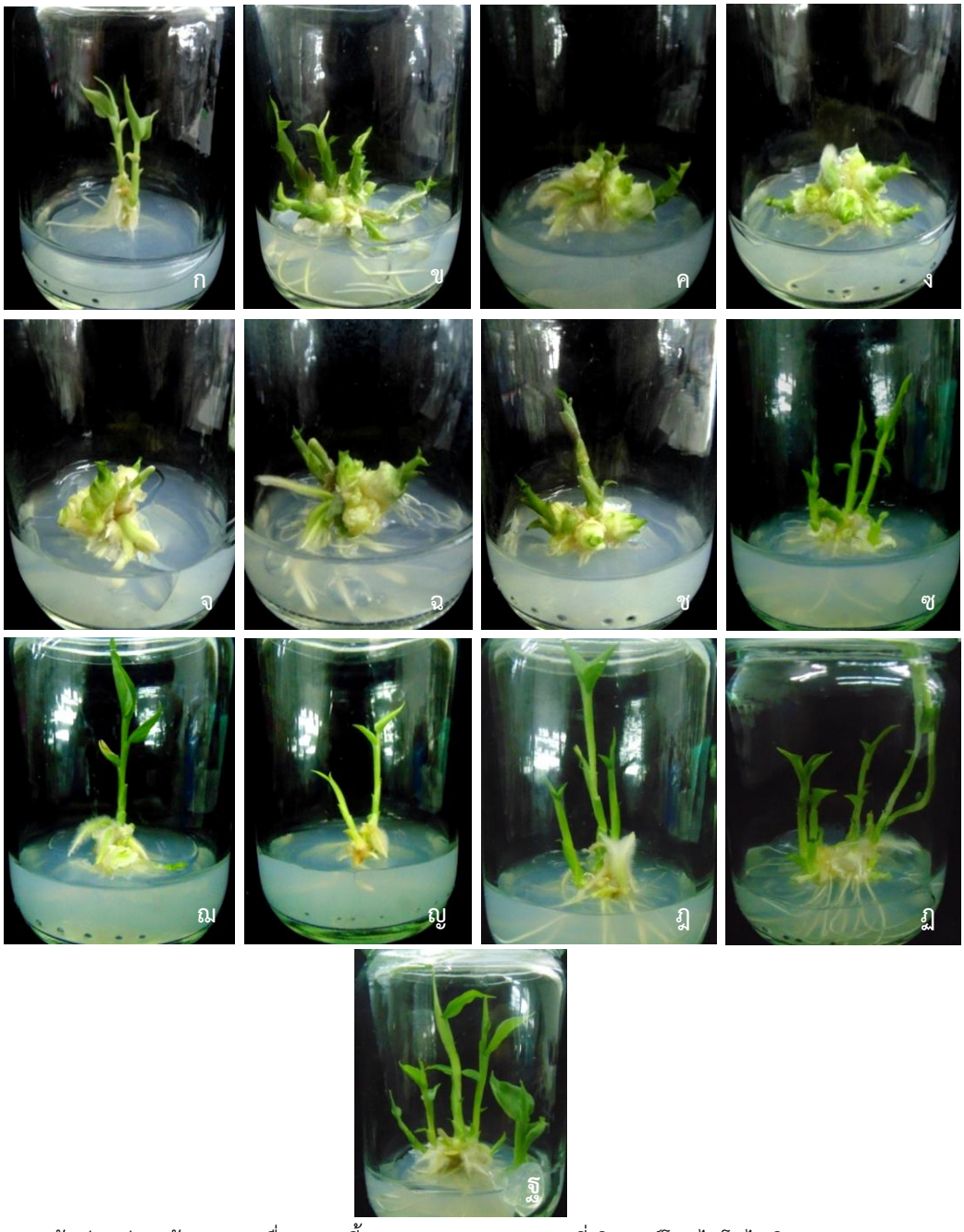
ผลของความเข้มข้นฮอร์โมนไซโทไคนิน (BA และ TDZ) ร่วมกับฮอร์โมนออกซิน (NAA) ต่อการเกิดยอดและราก

เมื่อนำต้นอ่อนว่านเข้าพรรษาขนาด 1 ซม. มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนไซโทไคนิน ได้แก่ BA และ TDZ ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 มก./ล. ร่วมกับฮอร์โมนออกซิน NAA ความเข้มข้น 1 มก./ล. พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.5 และ 5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล. มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 5.43 ยอด/ชิ้นส่วนพืช (ตารางที่ 3) ลักษณะต้นสั้น มีสีเขียว โคนต้นอวบ สีขาว ใบขนาดเล็กสีเขียว (รูปที่ 5 ข-ช) ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล. มีจำนวนยอดเฉลี่ย 3.80 ยอด/ชิ้นส่วนพืช จำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 21.50 ราก/ชิ้นส่วนพืช ความยาวรากเฉลี่ยสูงที่สุด 2.03 ซม. (ตารางที่ 3) ลักษณะรากยาว สีขาวและมีจำนวนมาก และเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล. มีจำนวนยอดเฉลี่ย 3.38 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และความยาวยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 4.16 ซม. ลักษณะต้นสูงสีเขียว มีใบ 3-4 ใบ จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าจำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 3 ผลของฮอร์โมนออกซินร่วมกับฮอร์โมนไซโทไคนิน ได้แก่ BA และ TDZ ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนว่านเข้าพรรษาบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

TDZ (มก./ล.)	BA (มก./ล.)	NAA (มก./ล.)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
0	0	0	1.50±0.19^{e}	2.24±0.33^{c}	7.25±1.36^{de}	1.58±0.23^{abc}
0.5	0	1	5.43±0.90^{a}	1.47±0.20^{cd}	8.43±2.06^{de}	1.63±0.26^{abc}
1	0	1	4.80±0.36^{ab}	1.00±0.09^{d}	6.70±2.64^{de}	0.82±0.19^{ef}
2	0	1	4.57±0.53^{ab}	0.97±0.10^{d}	6.14±2.14^{de}	1.44±0.26^{abcde}
3	0	1	3.86±0.34^{abc}	0.81±0.09^{d}	6.71±2.30^{de}	1.32±0.27^{bcde}
4	0	1	4.57±0.43^{ab}	0.95±0.15^{d}	11.43±3.43^{cde}	1.21±0.19^{cdef}
5	0	1	5.43±1.11^{a}	0.87±0.12^{d}	6.29±2.20^{de}	1.60±0.29^{abc}
0	0.5	1	2.50±0.92^{cde}	4.14±1.09^{a}	17.17±4.64^{abc}	1.51±0.32^{abcd}
0	1	1	1.67±0.23^{de}	1.52±0.17^{cd}	5.44±1.25^{e}	0.64±0.11^{f}
0	2	1	2.60±0.22^{cde}	1.46±0.25^{cd}	6.40±1.83^{de}	0.85±0.13^{def}
0	3	1	3.30±0.34^{bcd}	2.56±0.35^{bc}	13.40±1.57^{bcd}	1.22±0.19^{cdef}
0	4	1	3.80±0.49^{abc}	3.57±0.50^{ab}	21.50±1.19^{a}	2.03±0.13^{a}
0	5	1	3.38±0.94^{bcd}	4.16±0.48^{a}	19.50±1.94^{ba}	1.98±0.17^{ab}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT



รูปที่ 5 ต้นอ่อนว่านเข้าพรรษาเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนไซโทไคนิน (TDZ และ BA) ร่วมกับฮอร์โมนออกซิน (NAA) ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ก. MS (control)
ข. TDZ 0.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
ค. TDZ 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
ง. TDZ 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
จ. TDZ 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
ฉ. TDZ 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
ช. TDZ 5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
ซ. BA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
ฌ. BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
ญ. BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
ฎ. BA 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
ฏ. BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.
ฐ. BA 5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล.

วิจารณ์ผลการวิจัย

เมื่อนำต้นอ่อนว่านเข้าพรรษามาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนไซโทไคนิน ได้แก่ BA, TDZ และ Kinetin เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนว่านเข้าพรรษาที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 3 มก./ล. มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 5.33 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และไม่เกิดราก แตกต่างจาก ภัทราพร และคณะ (2557) ซึ่งนำต้นอ่อนกระทือ (*G. marantina*) มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 2 มก./ล. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ามีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 7.10 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และมีจำนวนรากเฉลี่ย 0.20 ราก/ชิ้นส่วนพืช และแตกต่างจาก Srirat et al. (2009) ซึ่งนำตาเหง้าของขมิ้นชัน (*Curcuma longa*) มาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 60 ก./ล. ร่วมกับ TDZ 5 มก./ล. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 6.65 ยอด/ชิ้นส่วนพืช เนื่องจาก TDZ เป็นฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนินที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์และเพิ่มจำนวนยอด แต่อย่างไรก็ตาม TDZ มีผลยับยั้งการเกิดรากและความยาวยอด (Huettemann and Preece, 1993) เมื่อนำต้นอ่อนว่านเข้าพรรษามาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มก./ล. มีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 13.90 ราก/ชิ้นส่วนพืช แตกต่างจาก Shukla et al. (2007) ซึ่งนำเหง้าของอาวแดง (*C. angustifolia*) เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน พบว่ามีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 6.3 ราก/ชิ้นส่วนพืช และ Ugochukwu et al. (2013) ซึ่งนำต้นอ่อนของขมิ้นชัน (*C. longa*) มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 8 มก./ล. ให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 2.96 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และแตกต่างจาก ภัทราพร และคณะ (2557) ซึ่งนำต้นอ่อนกระทือมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มก./ล. ให้จำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 23.77 ราก/ชิ้นส่วนพืช และต้นอ่อนว่านเข้าพรรษาที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 6 มก./ล. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ามีจำนวนยอดเฉลี่ย 3.30 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และมีความยาวยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 4.26 ซม. แตกต่างจาก Reena et al. (2015) ซึ่งนำตายอดของกระทือมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 3 มก./ล. และ NAA 0.5 มก./ล. ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 9.5 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และ Kochuthressia et al. (2012) นำเหง้าเปราะหอม (*Kaempferia galanga*) มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 มก./ล. ร่วมกับ Kinetin 1 มก./ล. มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 10.85 ยอด/ชิ้นส่วนพืช เมื่อเปรียบเทียบกันในกลุ่มฮอร์โมนไซโทไคนิน ทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ BA, TDZ และ Kinetin พบว่าฮอร์โมน TDZ สามารถชักนำให้เพิ่มจำนวนยอดได้มากที่สุด รองลงมา คือ BA และ Kinetin ตามลำดับ ทั้งนี้การนำฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนินหลายชนิดเติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงร่วมกันจะทำให้มีการงอกใหม่ของต้นอ่อนมากขึ้นซึ่งมากกว่าการใช้ฮอร์โมนเพียงชนิดเดียว (Bhattacharya and Sen, 2013)

เมื่อนำต้นอ่อนว่านเข้าพรรษามาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนออกซิน ได้แก่ IBA, IAA และ NAA เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดการเจริญของรากและยอดได้ดีกว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีฮอร์โมนในกลุ่มออกซินชนิดอื่น ทำให้มีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 20.60 ราก/ชิ้นส่วนพืช ความยาวรากเฉลี่ยสูงที่สุด 2.54 ซม. และมีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.80 ซม. เมื่อปริมาณฮอร์โมน NAA เพิ่มขึ้นจะมีจำนวนราก ความยาวราก และความยาวยอดเพิ่มขึ้น แตกต่างจาก เบญจพร และคณะ (2559) ซึ่งนำต้นอ่อนมหาอุดมแดง (*Curcuma*

pierreana) เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มก./ล. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าให้จำนวนรากเฉลี่ย 15.66 ราก/ชิ้นส่วนพืช และมีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 3.36 ซม. และ Bharalee et al. (2005) นำต้นอ่อนขมิ้นดำ (*C. caesia*)และขมิ้นอ้อย (*C. zedoaria*) มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มก./ล. มีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 9.2 และ 8.9 ราก/ชิ้นส่วนพืช ตามลำดับ ผลการทดลองที่ได้แตกต่างจาก จิราภรณ์ และคณะ (2558) ซึ่งนำต้นอ่อนเปราะราศี (*K. larsenii*) เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 2 มก./ล. ให้จำนวนรากเฉลี่ย 8.80 ราก/ชิ้นส่วนพืช ฮอร์โมน NAA เป็นฮอร์โมนกลุ่มออกซินที่สังเคราะห์ขึ้นมาจึงไม่ถูกย่อยสลายโดยเอมไซม์ ดังนั้นปริมาณที่ใช้จึงน้อย เช่น NAA ใช้ความเข้มข้น 0.1-2.0 มก./ล. (คำนูณ, 2542) นอกจากนี้ยังพบว่าฮอร์โมน NAA เมื่อได้รับแสงและความร้อนมีความเสถียรมากกว่าฮอร์โมนออกซินชนิดอื่น ทำให้ว่านเข้าพรรษาตอบสนองต่อฮอร์โมน NAA ดีกว่าฮอร์โมนออกซินชนิดอื่น (Shirin et al., 2000) ต้นอ่อนว่านเข้าพรรษาที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA 0.5 มก./ล. มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 4.38 ยอด/ชิ้นส่วนพืช แตกต่างจากงานวิจัยของจิราภรณ์ และคณะ (2558) ซึ่งนำต้นอ่อนเปราะราศีเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA 0.1 มก./ล. เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ามีจำนวนยอดเฉลี่ย 3.10 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และเบญจพร และคณะ (2559) นำต้นอ่อนมหาอุดมแดงเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA 0.1 มก./ล. ให้จำนวนรากเฉลี่ย 9.33 ราก/ชิ้นส่วนพืช จากการทดลองพบว่าเมื่อปริมาณฮอร์โมน IBA ลดน้อยลงจะสามารถชักนำให้เกิดรากและมีความยาวรากเพิ่มขึ้น และเมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนว่านเข้าพรรษาบนอาหารสูตร MS ที่เติม IAA 1 มก./ล. มีจำนวนรากเฉลี่ย 8.11 ราก/ชิ้นส่วนพืช เมื่อปริมาณฮอร์โมน IAA เพิ่มขึ้นสามารถชักนำให้เกิดราก ความยาวราก และจำนวนยอดเพิ่มขึ้น ลักษณะยอดมีสีเขียวและยาว ผลการทดลองที่ได้แตกต่างจาก Swapna et al. (2003) โดยใช้ชิ้นส่วนเหง้าและใบของเปราะหอมมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม IAA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ BAP 2.5 มก./ล. มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 78.3% ฮอร์โมน IAA เป็นฮอร์โมนออกซินที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ ถูกทำลายโดยแสงและเอนไซม์ เอนไซม์ที่ย่อย IAA คือ IAA oxidase ซึ่งพบเอนไซม์ชนิดนี้ในปริมาณสูงในเนื้อเยื่อพืชที่เพาะเลี้ยง เพราะฉะนั้นจึงควรใช้ IAA ในความเข้มข้นที่สูง เช่น 1-30 มก./ล. (คำนูณ, 2542) โดยทั่วไปแล้วมักใช้ฮอร์โมนออกซิน เช่น IAA, IBA และ NAA ในการกระตุ้นให้เนื้อเยื่อพืชเกิดการแบ่งตัว การยืดขยายตัวของเซลล์ และเกิดรากในพืชหลายชนิด ซึ่งพืชในแต่ละชนิด แต่ละจีโนไทป์ในช่วงอายุที่แตกต่างสามารถตอบสนองต่อออกซินแต่ละชนิดไม่เท่ากัน (สุนทรีย์, 2555)

เมื่อนำต้นอ่อนว่านเข้าพรรษามาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ TDZ ร่วมกับ NAA พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.5 และ 5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล. มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 5.43 ยอด/ชิ้นส่วนพืช แตกต่างจาก Kho et al. (2010) นำต้นอ่อนของ *G. brachyanthera* มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Gamborg B5 ที่ เติม BAP 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 5.4 ยอด/ชิ้นส่วนพืช Rahman et al. (2005) ใช้ชิ้นส่วนเหง้าเปราะหอมเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA, BA ร่วมกับ NAA และฮอร์โมน BA ร่วมกับ IBA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.1 มก./ล. มีจำนวนยอดเฉลี่ย 20.50

ยอด/ชิ้นส่วนพืชและ Jala (2014) นำช่อดอกของปทุมมา (*Curcuma* sp.) มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. ให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 3.75 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ต้นอ่อนว่านเข้าพรรษาที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล. ให้จำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 21.50 ราก/ชิ้นส่วนพืช และมีความยาวรากเฉลี่ยสูงที่สุด 2.03 ซม. แตกต่างจากภัทราพร และคณะ (2557) ซึ่งนำต้นอ่อนกระทือมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ BA 2 มก./ล. มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 4.79 ซม. ต้นอ่อนกระทือที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มก./ล. ร่วมกับ BA 0.5 มก./ล. มีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 25.33 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และแตกต่างจาก Bharalee et al. (2005) ซึ่งนำต้นอ่อนขมิ้นอ้อย มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล. ให้จำนวนรากเฉลี่ย 4.5 ราก/ชิ้นส่วนพืช และความยาวรากเฉลี่ย 3.8 ซม. จากการทดลองพบว่าการใช้ฮอร์โมนไซโทไคนิน (TDZ และ BA) เพียงชนิดเดียว จะกระตุ้นให้เพิ่มจำนวนยอดได้มาก เพราะฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนินมีคุณสมบัติกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการเจริญเปลี่ยนแปลงของเซลล์ และกระตุ้นการเจริญด้านข้างของลำต้น (สุนทรีย์ , 2555) และการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนว่านเข้าพรรษาในอาหารที่เติมเฉพาะฮอร์โมนออกซิน (IAA, IBA และ NAA) เพียงชนิดเดียวกระตุ้นให้เกิดรากได้จำนวนมาก เนื่องจากฮอร์โมนออกซินช่วยในการยืดตัวของเซลล์และกระตุ้นการเกิดราก ฮอร์โมน NAA สามารถชักนำให้เกิดรากได้มากกว่าฮอร์โมนออกซินชนิดอื่น ผลจากการทดลองพบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนว่านเข้าพรรษาในอาหารที่เติมฮอร์โมนไซโทไคนิน (TDZ และ BA) ร่วมกับ ฮอร์โมนออกซิน (NAA) ได้จำนวนยอดและจำนวนรากมากซึ่งมีลักษณะแข็งแรงเหมาะสมต่อการนำออกปลูกในสภาพธรรมชาติ

สรุปผลการวิจัย

เพาะเลี้ยงต้นอ่อนว่านเข้าพรรษาบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนิน พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 3 มก./ล. ให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 5.33 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และมีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 20.60 ราก/ชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA 1 มก./ล. และอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ TDZ ร่วมกับ NAA พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ 0.5 และ 5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล. ให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 5.43 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล. ให้จำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 21.50 ราก/ชิ้นส่วนพืช และมีความยาวรากเฉลี่ยสูงที่สุด 2.03 ซม. ซึ่งการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนว่านเข้า พรรษาในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนินร่วมกับฮอร์โมนออกซินให้จำนวนยอดและรากเฉลี่ยมากกว่าการเพาะเลี้ยงในอาหารที่ใช้ฮอร์โมนเพียงชนิดเดียว จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถเพิ่มจำนวนว่านเข้าพรรษาในหลอดทดลอง เพื่อเป็นการอนุรักษ์ว่านเข้าพรรษาที่มีสถานะภาพเป็นพืชหายากให้คงอยู่อย่างยั่งยืนต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนเรียนดีวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทยที่ให้ทุนการศึกษา ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัย ประเภทบัณฑิตศึกษา ประจำปีงบประมาณ 2560 สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และสำนักงานเศรษฐกิจจากฐานชีวภาพ (องค์การมหาชน) หรือ BEDO ที่ให้ทุนสนับสนุนการทำวิจัย ขอขอบคุณผู้เขียนบทความ งานวิจัย บทความวิชาการและหนังสือ

ทุกเล่มที่ใช้อ้างอิงในครั้งนี้ ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

คำนูณ กาญจนภูมิ. (2542). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สานักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. หน้า 29-30.

จิราภรณ์ ผุดผ่อง, สุรพล แสนสุข และปิยะพร แสนสุข. (2558). การขยายพันธุ์เปราะราศี (*Kaempferia larsenii* Sirirugsa) ในหลอดทดลองเพื่อการอนุรักษ์พืชหายากในประเทศไทย. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 43(4): 673-687.

เบญจพร ภูกาบหิน, สุรพล แสนสุข และปิยะพร แสนสุข. (2559). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมหาอุดมแดง (*Curcuma pierreana* Gagnep.) เพื่อการอนุรักษ์พืชหายากในประเทศไทย. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 44(2): 294-306.3

ปิติมา พุ่มพวง. (2557). ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของพืชสกุลหงส์เหินในประเทศไทยโดยใช้เทคนิคเอเอฟแอลพี. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร : 71 หน้า

ปรัชญา ศรีสง่า, สุชาดา วงศ์ภาคำ, วาสนา คำกวน, ตรัย เป็กทอง, จันทรารักษ์ โตวรานนท์, ทัศนีเวศ ยะโส และสุรีย์พร นนทชัยภูมิ. (2554). พฤกษศาสตร์พื้นบ้านของชาวอาข่า หมู่บ้านห้วยหยวกป่าโซ อำเภอแม่ฟ้าหลวง และหมู่บ้านใหม่พัฒนา อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย. วารสารพฤกษศาสตร์ไทย 3(1): 93-114.

ภัทราพร พิมพ์หมื่น, ปิยะพร แสนสุข และสุรพล แสนสุข. (2557). การขยายพันธุ์กระทือ (*Globba marantina* L.) ในหลอดทดลอง. วารสารวิจัย มข. 19(4): 596-605.

สุนทรีย์ สุรศร. (2555). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร.

สุรพล แสนสุข. (2554). พืชถิ่นเดียวและพืชหายากของวงศ์ขิง-ข่าในประเทศไทย. วารสารวิจัย มข. 16(3): 306-330.

Bharalee, R., Das, A. and Kalita, M.C. (2005). *In vitro* clonal propagation of *Curcuma caesia* Roxb. and *Curcuma zedoaria* Rosc. from rhizome bud explants. Journal Plant Biochemistry & Biotechnology 14: 61-63.

Bhattacharya, M. and Sen, A. (2013). *In vitro* regeneration of pathogen free *Kaempferia galanga* L. - a rare medicinal plant. Research in Plant Biology 3(3): 24- 30.

Huetteman, C. A. and Preece, J. E. (1993). Thidiazuron: a potent cytokinnin for woody plant tissue culture. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 33: 105-119.

Jala, A. (2014). Effect of Paclobutrazol and BA on micropropagation in *Curcuma* sp. *in vitro*. Thai Journal of Science and Technology 3(1): 15-22.

Kho, P.E., San, H.B., Boyce, P. C. and Sim, S. L. (2010). *In vitro* propagation of *Globba brachyanthera* K. Schum. Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology 18(1): 119-122.

Kochuthressia, K.P., Britto, S.J. and Jaseentha, M.O. (2012). *In vitro* multiplication of *Kaempferia galanga* L. an endangered species. International Research Journal of Biotechnology 3(2): 27-31.

Larsen, K. and Larsen, S.S. (2006). Gingers of Thailand: Queen Sirikit Botanic Garden. pp. 9.

Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiology Plant 15: 473-497.

Rahman, M.M., Amin, M.N., Ahamed, T., Ahmad, S., Habib, A., Ahmed, R., Ahmed, M.B. and Ali, M.R. (2005). *In vitro* rapid propagation of black thorn *Kaempferia galanga* L.: a rare

medicinal and aromatic plant of Bangladesh. Journal of Biological Sciences 5(3): 300-304.

Reena, P., Sujata, M. and Sanghamitra, N. (2015). Rapid and stable propagation of *Globba marantina* L., an important medicinal plant of family Zingiberaceae. In: Annual International Conference on Advances in Biotechnology. 13-15 March 2015. Kanpur, India. Singapore. 2251-2489.

Shirin, F., Kumar, S. and Mishra, Y. (2000). *In vitro* plantlet production system for *Kaempferia galanga* L., a rare Indian medicinal herb. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 63: 193-197.

Shukla, S.K., Shukla, S., Koche, V. and Mishra, S.K. (2007). *In vitro* propagation (*Curcuma angustifolia* Roxb): A starch yielding plant. Indian Journal of Biotechnology 6: 274-276.

Srirat, P., Sirisansaneeyakul, S., Parakulsuksatid, P., Prammanee, S. and Vanichsriratana, W. (2009). *In vitro* shoot propagation of *Curcuma longa* L. from rhizome bud explants. In: The 3rd International Conference on Fermentation Technology for Value Added Agricultural Products, 26-28 August 2009. Khon Kaen, Thailand 4(15): 1-5.

Swapna, T.S., Binitha, M. and Manju, T.S. (2003). *In vitro* multiplication in *Kaempferia galanga* L. Applied Biochemistry and Biotechnology 118: 233-241.

Ugochukwu, S.C., Ezumah, B.S., Ozioma, O., Odi, E.B., Ijeoma, I.C. and Olanike, O. (2013). Shoot proliferation of *in vitro* turmeric (*Curcuma longa* L.) affected by different concentrations of Benzylaminopurine (BAP). World Journal of Agricultural Sciences 9(3): 227-230.

❑❑❑❑❑