

การขยายพันธุ์เจตมูลเพลิงขาวโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *IN VITRO PROPAGATION OF PLUMBAGO ZEYLANICA L.*

จตุพร หงษ์ทองคำ*, นัตติยากรณ์ ผาเนตร และ จริยา สิงห์มาตร
Jatuporn Hongthongkham*, Natteyakon Phanet and Jariya Singhamat

สาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด
Department of Science and Technology, Faculty of Liberal Arts and Science,
Roi Et Rajabhat University

Received: 15 March 2022

Accepted: 10 August 2022

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อขยายพันธุ์เจตมูลเพลิงขาวในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำชิ้นส่วนตาข้างมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (NaOCl) ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 10 และ 15 นาที พบว่า ความเข้มข้นของ NaOCl และระยะเวลาที่เหมาะสม คือ NaOCl ความเข้มข้น 1.24% เป็นเวลานาน 10 นาที มีอัตราการรอดสูงสุด 92% จากนั้นนำชิ้นส่วนตาข้างที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0-4 มก./ล. เพื่อชักนำให้เกิดยอด เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า อาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 4 มก./ล. ชักนำให้ตาข้างเกิดยอดได้มากที่สุด 3.28 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ยอดมีความสูงและมีจำนวนใบเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 61.86 มม. และ 8.57 ใบ/ยอด ตามลำดับ เมื่อย้ายชิ้นส่วนยอดของเจตมูลเพลิงขาว มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม NAA ระดับความเข้มข้น 0-2 มก./ล. เพื่อชักนำให้เกิดราก เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า อาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 2 มก./ล. สามารถชักนำให้ยอดเกิดรากเฉลี่ยได้มากที่สุด 11.75 รากต่อยอด และมีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 31.50 มม.

คำสำคัญ: เจตมูลเพลิงขาว, การขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ, โซเดียมไฮโปคลอไรต์

* ผู้ประสานงาน: จตุพร หงษ์ทองคำ

อีเมลล์: Jatuporn_h@hotmail.com

Abstract

This study aimed to investigate *in vitro* propagation of *Plumbago zeylanica* L. The axillary buds were surface sterilized with various concentrations of sodium hypochlorite (NaOCl) for 10 and 15 minutes. The result showed that the suitable concentration and duration of NaOCl were 1.24% and 10 minutes which presented the highest survival percentage of axillary buds 92%. The sterilized axillary buds were cultured on MS medium supplemented with 0-4 mg/l BA for shoots induction. After 8 weeks of culture, the result of shoot induction using 4 mg/l BA indicated that the highest shoot was 3.28 shoot/explant, the average of shoot height and leaves were 61.86 mm and 8.57 leaves/shoot, respectively. The shoots were transferred to MS medium supplemented with 0-2 mg/l NAA for roots induction at 4 weeks. It was found that the highest of root induction was observed from the medium supplemented with 2 mg/l NAA. The maximum number of roots and the highest of roots length were 11.75 roots per shoot and 31.50 mm., respectively.

Keywords: *Plumbago zeylanica* L, *In vitro* propagation, Sodium hypochlorite

บทนำ

เจตมูลเพลิงขาว (*Plumbago zeylanica* L.) เป็นไม้พุ่มหรือไม้ล้มลุกขนาดเล็กอยู่ในวงศ์ PLUMBAGINACEAE ใบเป็นใบเดี่ยวรูปมนรี ปลายใบแหลม โคนใบมนมีสีเขียวอมแดง เรียงสลับกัน (Alternate) ไปตามข้อ ดอกมีสีขาวออกเป็นช่อที่ปลายกิ่ง เจตมูลเพลิงขาว จัดเป็นพืชสมุนไพรที่สำคัญชนิดหนึ่งในประเทศไทย มีสรรพคุณเป็นยาสมุนไพรพื้นบ้าน เป็นส่วนประกอบในตำรับยาไทยหลายขนานโดยใช้ส่วนต่างๆ เช่น ใบ ใช้แก้ลม ขับเสมหะ ช่วยย่อยอาหาร แก้ปวดเมื่อย ปวดบวม ส่วนของดอก แก้โรครตา แก้หนาวเย็น ลำต้น ใช้ขับประจำเดือน และราก ใช้ขับลมในกระเพาะอาหารและลำไส้ ช่วยย่อย ทำให้เจริญอาหาร ขับประจำเดือน บำรุงโลหิต แก้ปวดท้อง แก้ท้องเสีย เป็นต้น (เพ็ญญา ทรัพย์เจริญ, 2542) นอกจากนี้ในส่วนรากของเจตมูลเพลิงขาวยังมีสารออกฤทธิ์ในกลุ่ม Naphthoquinone

ชื่อ Plumbagin (Didry et al., 1994; Ceasar et al., 2013) ที่มีฤทธิ์ในการต้านมะเร็ง (Aziz et al., 2008) ด้านสารอนุมูลอิสระ (Tilak et al., 2004) และต้านเชื้อแบคทีเรีย (Pavia et al., 2003)

รากของเจตมูลเพลิงขาวที่เหมาะสมนำไปใช้เป็นส่วนประกอบในตัวยา จำเป็นต้องใช้รากที่มีขนาดเหมาะสมและมีคุณภาพดี หากมีการนำรากจากต้นพันธุ์ที่มีตามธรรมชาติเพื่อนำไปใช้ประโยชน์หรือขุดออกมาขายจำนวนมากขึ้น อาจส่งผลให้เกิดการสูญพันธุ์ได้ในอนาคต ปัจจุบันนิยมขยายพันธุ์เจตมูลเพลิงขาวโดยการใช้เมล็ดและการปักชำกิ่ง แต่การขยายพันธุ์ด้วยวิธีการดังกล่าวผลิตต้นพืชได้จำนวนน้อย และใช้เวลานานหากต้องการจำนวนต้นพันธุ์ที่มีปริมาณมาก นอกจากนี้ยังพบว่าการเพาะเมล็ดมีอัตราการงอกน้อยและถึงแม้เมล็ดจะงอกเป็นต้นอ่อนได้แต่ยังคงมีอัตราการตายที่สูงเมื่อปลูกในธรรมชาติ (Ceasar et al., 2013) เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาดังกล่าว การนำวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหรือการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อมาใช้เพื่อขยายพันธุ์ต้นเจตมูลเพลิงขาวเพื่อให้ได้จำนวนมากนั้น นอกจากจะได้พืชที่มีคุณภาพดี มีความสม่ำเสมอและปลอดโรคแล้วยังเป็นการอนุรักษ์พันธุ์เจตมูลเพลิงขาวได้อีกด้วย

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant tissue culture) หรือการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ (*In vitro* propagation) เป็นวิธีการที่นิยมใช้ในการขยายพันธุ์พืชโดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชที่มีความสำคัญเศรษฐกิจ พืชที่เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ และพืชสมุนไพร เพราะนอกจากจะได้ต้นพันธุ์จำนวนมากในเวลาอันรวดเร็วแล้วยังทำให้ได้พืชที่มีความสม่ำเสมอเมื่อนำไปปลูกในธรรมชาติจึงได้ผลผลิตที่มีคุณภาพดี สะอาดปราศจากโรคและเพียงพอต่อความต้องการ จึงเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการอนุรักษ์พืชที่ใกล้สูญพันธุ์ หรือพืชหายากได้อย่างมีประสิทธิภาพ (รังสฤษฏ์ กาวีตะ, 2540) อย่างไรก็ตามชิ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมักมาจากธรรมชาติที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ดังนั้นเพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจจะเกิดขึ้นในระหว่างขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จึงต้องมีเทคนิคหรือวิธีการที่เหมาะสมในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าว (วราภรณ์ ภูตะลุน, 2551)

นอกจากนี้ปัจจัยที่ส่งเสริมให้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชประสบความสำเร็จยังขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้งที่มีอยู่ภายในเนื้อเยื่อพืชและที่เติมลงไป ในอาหารเพาะเลี้ยงอีกด้วย โดยสารควบคุมการเจริญเติบโตมีหน้าที่กระตุ้น และส่งเสริมให้เนื้อเยื่อพืชเกิดการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาไปเป็นอวัยวะอย่างสมบูรณ์ (ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์,

2546) ซึ่งสารที่มีความสำคัญและนิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชคือ สารในกลุ่มออกซิน (Auxin) ได้แก่ NAA (Naphthalene acetic acid) และ 2,4-D (2,4-Dimethyl ammonium) และกลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinin) ได้แก่ BA (N_6 -benzyladenine) และ kinetin (KN) อย่างไรก็ตามพืชแต่ละชนิดรวมถึงชิ้นส่วนที่นำมาเพาะเลี้ยงมีความต้องการปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงต้องมีการศึกษาหาปริมาณที่เหมาะสมของสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อให้สามารถขยายพันธุ์พืชในสภาพปลอดเชื้อได้

สำหรับการศึกษาการขยายพันธุ์เจตมูลเพลิงขาวโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในประเทศไทยพบว่ายังมีการศึกษาเพียงเล็กน้อย โดยเป็นการศึกษาสูตรอาหารและสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน (BA, KN และ TDZ) ต่อการชักนำให้เกิดยอด (กัญญาภรณ์ พิพิธแสงจันทร์, 2561) ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนตาข้าง และศึกษาผลของ BA ต่อการชักนำให้เกิดยอดและเพิ่มจำนวนยอด และผลของ NAA ต่อการชักนำให้เกิดรากของเจตมูลเพลิงขาวในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาด้านการขยายพันธุ์เจตมูลเพลิงขาวต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

การหาสภาวะที่เหมาะสมของการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนตาข้างเจตมูลเพลิงขาว

นำชิ้นส่วนตาข้างเจตมูลเพลิงขาวล้างทำความสะอาดด้วยน้ำผสมน้ำยาล้างจาน เขย่าเป็นเวลานาน 5 นาที และล้างออกด้วยน้ำสะอาด จากนั้นย้ายมาแช่ในแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 70% เขย่านาน 1 นาที และแช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (NaOCl) ที่ระดับความเข้มข้น 0.42, 0.83 และ 1.24% เขย่านาน 10 และ 15 นาที เมื่อครบกำหนดล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที นำชิ้นส่วนพืชมาวางบนจานเพาะเชื้อและทำการตัดแต่งชิ้นส่วนพืชให้มีขนาดประมาณ 0.5-1.0 ซม. เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS พื้นฐาน เลี้ยงในที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสงนาน 16 ชั่วโมง/วัน ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ วางแผนการทดลองแบบ 3×2 Factorial in CRD ทำซ้ำทั้งหมด 5 ซ้ำ ซ้ำละ 5 ตัวอย่าง โดยมีปัจจัยที่ 1 ความเข้มข้นของ NaOCl 3 ระดับ คือ ความเข้มข้น 0.42%, 0.83% และ 1.24% และปัจจัยที่ 2 เวลาในการฟอกฆ่าเชื้อ 10 และ 15 นาที บันทึกเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน และเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงผ่านไปเป็นเวลา 4 สัปดาห์

การชักนำให้เกิดยอด

ขึ้นส่วนตาข้างเจตมูลเพลิงขาวที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้วมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA (N_6 -benzyladenine) ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ (0, 1, 2, 3 และ 4 มก./ล.) เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสงนาน 16 ชั่วโมง/วัน ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัวอย่าง บันทึกผลการทดลองโดยนับจำนวนยอด จำนวนใบเฉลี่ยต่อยอด และวัดความสูงยอดเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

การชักนำให้เกิดราก

นำยอดเจตมูลเพลิงขาวที่เพาะเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์ และมีความสูงเฉลี่ย 1.5-2.0 ซม. มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA (Naphthalene acetic acid) ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ (0, 0.5, 1 และ 2 มก./ล.) เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสงนาน 16 ชั่วโมง/วัน ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ตัวอย่าง บันทึกผลการทดลองโดยนับจำนวนรากเฉลี่ยต่อยอด และวัดความยาวรากที่เกิดขึ้น เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การหาสภาวะที่เหมาะสมของการฟอกฆ่าเชื้อขึ้นส่วนตาข้างเจตมูลเพลิงขาว

ปัญหาสำคัญที่มักพบในการขยายพันธุ์พืชโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชคือการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจเกิดขึ้นในระหว่างการเพาะเลี้ยง ดังนั้นเพื่อหลีกเลี่ยงการปนเปื้อนดังกล่าว การทำความสะอาดหรือการฟอกฆ่าเชื้อขึ้นส่วนพืชก่อนนำมาเพาะเลี้ยงจึงเป็นขั้นตอนที่สำคัญ การนำสารเคมีบางชนิด เช่น โซเดียมไฮโปคลอไรด์ (NaOCl) ที่มีคุณสมบัติเป็นสารฟอกขาวและมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้หลายชนิดมาใช้ในขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของการฟอกฆ่าเชื้อได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของขึ้นส่วนพืชรวมถึงปริมาณและระยะเวลาที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ (ภพเกล้า พุทธรักษ์ และคณะ, 2554) จากการศึกษาได้นำขึ้นส่วนตาข้างของเจตมูลเพลิงขาวมาฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้โซเดียมไฮโปคลอไรด์ความเข้มข้นและระยะเวลาที่ต่างกัน พบว่า ความเข้มข้นของโซเดียม

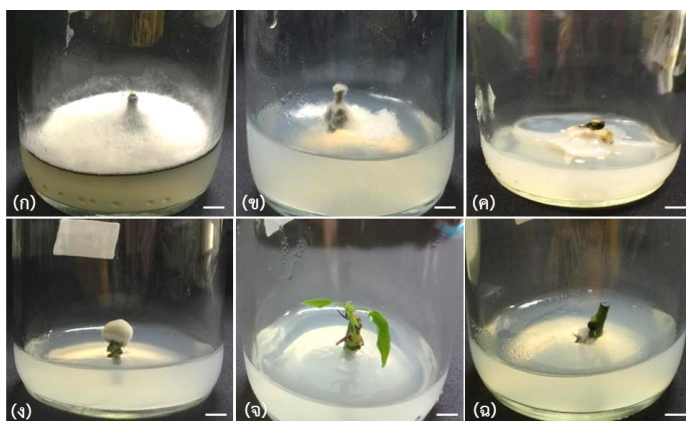
ไฮโปคลอไรด์และเวลาที่ใช้พอกฆ่าเชื้อมีอิทธิพลร่วมกันต่อการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียและการรอดชีวิตของชิ้นส่วนพืชอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรด์ความเข้มข้น 0.83% นาน 15 นาที และโซเดียมไฮโปคลอไรด์ความเข้มข้น 1.24% นาน 10 นาที ชิ้นส่วนตาข้างมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด 92% เมื่อพิจารณาปัจจัยความเข้มข้นของโซเดียมไฮโปคลอไรด์ พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมไฮโปคลอไรด์สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้ และชิ้นส่วนพืชมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงขึ้น ขณะเดียวกันการเพิ่มระยะเวลาในการพอกฆ่าเชื้อมีแนวโน้มให้ชิ้นส่วนพืชเกิดการปนเปื้อนลดลงและมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงขึ้นเช่นกัน อย่างไรก็ตามจากการศึกษาพบว่า การใช้โซเดียมไฮโปคลอไรด์ที่ความเข้มข้นสูง (1.24%) และใช้เวลาพอกฆ่าเชื่อนาน (15 นาที) ส่งผลให้ชิ้นส่วนพืชมีเปอร์เซ็นต์การตายสูงขึ้น โดยเฉพาะการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรด์ความเข้มข้น 1.24% นาน 15 นาที ชิ้นส่วนตาข้างมีการตายสูงถึง 16% (ตารางที่ 1) (รูปที่ 1) มีงานวิจัยจำนวนมากได้นำโซเดียมไฮโปคลอไรด์ที่ประกอบอยู่ในคลอโรกซ์และไฮเตอร์มาใช้ในการพอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช เนื่องจากหาซื้อได้ง่ายและราคาถูกอีกทั้งไม่เป็นอันตรายต่อร่างกายมากนัก อย่างไรก็ตามหากใช้ความเข้มข้นที่มากเกินไปก็อาจเป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อพืชได้ (ประศาสตร์ เกี่ยมณี, 2538; ภพเกล้า พุทธรักษ์ และคณะ, 2554) ซึ่งการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของภพเกล้า พุทธรักษ์ และคณะ (2554) ที่พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายคลอโรกซ์สูง 30% (มีปริมาณโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 2.48%) ทำให้ชิ้นส่วนหัววานส์ที่มีอัตราการรอดเชื้อสูงแต่อัตราการรอดชีวิตต่ำ โดยชิ้นส่วนจะถูกทำลาย มีลักษณะเป็นสีน้ำตาล ช้ำและตาย อย่างไรก็ตามในการศึกษาของจันทร์เพ็ญ ใจชื่อ และคณะ (2562) พบว่า การพอกฆ่าเชื้อส่วนข้อของต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงด้วยไฮเตอร์เข้มข้น 30% หรือคิดเป็น 1.8% โซเดียมไฮโปคลอไรด์ ชิ้นส่วนพืชมีการรอดชีวิตสูง 100% ในการศึกษาพบว่า การใช้โซเดียมไฮโปคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 1.24% นาน 10 นาที สามารถใช้ในการพอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนตาข้างเจตมูลเพลิงขาวให้ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และนอกจากนี้ชิ้นส่วนพืชยังสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ปกติ อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของสารที่ใช้พอกและระยะในการพอกฆ่าเชื้อขึ้นอยู่กับชนิด อายุ และชิ้นส่วนของพืชที่นำมาศึกษาด้วย บุญยืน กิจวิจารณ์ (2547) รายงานว่า หากชิ้นส่วนพืชที่นำมาพอกฆ่าเชื้อมีความหนา และค่อนข้างแข็ง อาจใช้สารพอกฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นสูง และใช้ระยะเวลาการพอกนาน

ขณะที่ขึ้นส่วนพืชที่มีขนาดบางและค่อนข้างอ่อน อาจใช้สารฟอกฆ่าเชื้อที่มีความเข้มข้นน้อย และลดระยะเวลาในการฟอกลง

ตารางที่ 1 ผลการฟอกฆ่าเชื้อขึ้นส่วนตาข้างของเจตมูลเพลิงขาวด้วย NaOCl ที่ความเข้มข้น และระยะเวลาด่าง ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ความเข้มข้น NaOCl (%) (A)	เวลาในการ ฟอกฆ่าเชื้อ (นาทิจ) (B)	การปนเปื้อน (%)		การรอดชีวิต (%)	การตาย (%)
		แบคทีเรีย	รา		
0.42	10	88.00 ^a	8.00	4.00 ^c	0.00 ^b
	15	84.00 ^a	8.00	8.00 ^c	0.00 ^b
0.83	10	60.00 ^b	4.00	36.00 ^b	0.00 ^b
	15	8.00 ^c	0.00	92.00 ^a	0.00 ^b
1.24	10	0.00 ^c	0.00	92.00 ^a	8.00 ^b
	15	0.00 ^c	0.00	84.00 ^a	16.00 ^a
A x B		*	ns	*	*
ความเข้มข้น	0.42	86.00 ^a	8.00 ^a	6.00 ^c	0.00 ^b
NaOCl (%)	0.83	34.00 ^b	2.00 ^{ab}	64.00 ^b	0.00 ^b
(A)	1.24	0.00 ^c	0.00 ^b	88.00 ^a	12.00 ^a
A		*	*	*	*
เวลาในการฟอก	10	49.33	4.00	44.00	2.67
ฆ่าเชื้อ (นาทิจ)	15	30.67	2.67	61.33	5.33
(B)					
B		ns	ns	ns	ns

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวดังมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)



รูปที่ 1 ผลของการฟอกฆ่าเชื้อตาข้างเจตมูลเพลิงขาวด้วยสาร NaOCl ความเข้มข้น และระยะเวลาต่าง ๆ; (ก) : 0.42% NaOCl นาน 10 นาที, (ข) : 0.42% นาน 15 นาที, (ค) : 0.83% NaOCl นาน 10 นาที, (ง) : 0.83% NaOCl นาน 15 นาที, (จ) : 1.24% NaOCl นาน 10 นาที และ (ฉ) : 1.24% NaOCl นาน 15 นาที (Scale bars: 10 mm)

การชักนำให้เกิดยอด

จากการศึกษาการชักนำให้ตาข้างเจตมูลเพลิงขาวเกิดยอดโดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0-4 มก./ล. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า อาหารที่เติม BA ทุกความเข้มข้น (1-4 มก./ล.) สามารถชักนำให้ตาข้างเจตมูลเพลิงขาวเกิดยอดได้ดีกว่าอาหารที่ไม่เติม BA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2) โดยอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4 มก./ล. ชักนำให้ตาข้างเกิดยอดได้มากที่สุด มีจำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้นส่วนพืช 3.28 ยอด รองลงมาคือ อาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มก./ล. และอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มก./ล. ให้จำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 2.57 และ 2.00 ยอด ตามลำดับ (ตารางที่ 2) เมื่อพิจารณาความสูงยอด และจำนวนใบต่อดัน พบว่า อาหาร MS ที่เติม BA 4 มก./ล. ยอดมีความสูงเฉลี่ยสูงสุด 61.86 มม. และให้จำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด 8.57 ใบ (ตารางที่ 2) เนื่องจาก BA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินที่สามารถกระตุ้นให้เนื้อเยื่อพืชเกิดการแบ่งเซลล์และขยายขนาดของเซลล์พืช รวมถึงสร้างยอดใหม่ (Taiz & Zeiger, 2002) อย่างไรก็ตามมีงานวิจัยที่ผ่านมาได้ศึกษาการชักนำให้เกิดยอดใหม่ของเจตมูลเพลิงขาว พบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต่าง ๆ ได้แก่ ชิ้นส่วนข้อ ปลายยอด ตาข้าง

และเอ็มบริโอบนอาหารเพาะเลี้ยงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน เช่น BAP หรือไคนติน (KN) ที่ระดับความเข้มข้น 0.5-5 มก./ล. ร่วมกับออกซิน เช่น NAA IAA หรือ IBA ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (0.01-4.5 มก./ล.) สามารถกระตุ้นให้เกิดยอดใหม่และเพิ่มจำนวนยอดได้ดีกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมสารในกลุ่มไซโตไคนินเพียงอย่างเดียว (Sivanesan & Jeong, 2009; Gbadamosi & Egunyomi, 2010; Ceasar et al., 2013; Chatterjee & Ghosh, 2015; Raja et al., 2018) ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าการเติม BA ซึ่งเป็นสารในกลุ่มไซโตไคนินเพียงอย่างเดียวลงในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS มีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะกระตุ้นให้ตาข้างเจตมูลเพลิงขาวเกิดยอดใหม่ได้ สอดคล้องกับ Vijay et al., (2016) ที่รายงานว่า อาหารสังเคราะห์ที่เติม BA เพียงอย่างเดียวสามารถชักนำให้ขึ้นส่วนตาข้างของเจตมูลเพลิงขาวเกิดยอดและเพิ่มจำนวนยอดได้ดี นอกจากนี้จากการทดลองพบว่าตาข้างเกิดยอดใหม่ได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA ในความเข้มข้นที่สูงขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากขึ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงยังไม่มีการสังเคราะห์ฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนินหรืออาจสร้างได้น้อยจึงไม่เพียงพอที่จะกระตุ้นให้เนื้อเยื่อเกิดการการสร้างยอดได้ ดังนั้นเมื่อได้รับ BA จากอาหารเพาะเลี้ยงในปริมาณที่เพียงพอจึงทำให้เกิดการพัฒนาของเนื้อเยื่อเป็นอวัยวะได้ดีขึ้น

ตารางที่ 2 ผลของสารควบคุมการเจริญ BA ต่อการชักนำให้เกิดยอดของขึ้นส่วนตาข้างเจตมูลเพลิงขาว เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ความเข้มข้น BA (มก./ล.)	จำนวนยอดเฉลี่ย/ขึ้นส่วน พืช $\pm$ SD	ความสูงยอดเฉลี่ย/ ยอด (มม.) $\pm$ SD	จำนวนใบเฉลี่ย/ต้น $\pm$ SD
0	1.14 $\pm$ 0.14 ^d	30.00 $\pm$ 0.43 ^c	3.86 $\pm$ 0.26 ^e
1	1.57 $\pm$ 0.13 ^{cd}	42.29 $\pm$ 0.91 ^b	6.57 $\pm$ 0.29 ^d
2	2.00 $\pm$ 0.12 ^c	45.14 $\pm$ 0.73 ^b	7.00 $\pm$ 0.30 ^{bc}
3	2.57 $\pm$ 0.18 ^b	45.43 $\pm$ 0.49 ^b	7.71 $\pm$ 0.42 ^{ab}
4	3.28 $\pm$ 0.15 ^a	61.86 $\pm$ 0.53 ^a	8.57 $\pm$ 0.36 ^a

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

การชักนำให้เกิดราก

เมื่อย้ายยอดของเจตมูลเพลิงขาวมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ เพื่อชักนำให้เกิดรากเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า อาหารที่เติม NAA ทุกความเข้มข้น (0.5-2 มก./ล.) สามารถชักนำให้ยอดเกิดรากใหม่ได้แตกต่างจากอาหารที่ไม่เติม NAA อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ NAA ที่ความเข้มข้นสูงจะกระตุ้นให้เกิดรากได้ดีกว่า NAA ความเข้มข้นต่ำ โดยเฉพาะอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 2 มก./ล. ชักนำให้ยอดเจตมูลเพลิงขาวเกิดรากเฉลี่ยได้มากที่สุด 11.75 ราก/ยอด และมีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 31.50 มม. ซึ่งแตกต่างกับยอดเจตมูลเพลิงขาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร ที่ไม่เติม NAA และอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 และ 1 มก./ล. ที่มีจำนวนรากเฉลี่ย 7.25 และ 3.00 ราก/ยอด ตามลำดับ (ตารางที่ 3) (รูปที่ 2) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า NAA ส่งเสริมให้เนื้อเยื่อพืชเกิดรากได้ เนื่องจาก NAA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินที่สามารถกระตุ้นให้เนื้อเยื่อพืชเกิดการแบ่งเซลล์ ขยายขนาดของเซลล์และชักนำให้เกิดรากได้ แม้ว่าจะมีรายงานว่าการใช้ออกซินความเข้มข้นสูงสามารถยับยั้งการสร้างรากในพืชหลายชนิด (Chatterjee & Ghosh, 2015; เกศินี ศรีปฐมกุล และคณะ, 2563; นงนุช เลาหะวิสุทธิ และคณะ, 2560; พัทธรียา บุญกอบแก้ว, 2560) และอาจกระตุ้นให้เกิดการสร้างแคลลัส (Sivanesan & Jeong, 2009) แต่ในการทดลองนี้พบว่า จำนวนรากและความยาวรากมากขึ้นเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของ NAA และไม่พบแคลลัสเกิดขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่ารากที่เกิดขึ้นแข็งแรงและปกติ

ตารางที่ 3 ผลของสารควบคุมการเจริญ NAA ต่อการชักนำให้เกิดยอดของชิ้นส่วนตาข้างเจตมูลเพลิงขาว เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ความเข้มข้น NAA (มก./ล.)	จำนวนรากเฉลี่ย/ยอด ±SD	ความยาวรากเฉลี่ย (มม.) ±SD
0	1.00±0.00 ^c	4.00±0.71 ^c
0.5	3.00±0.41 ^c	6.38±0.04 ^{bc}
1	7.25±1.11 ^b	10.50±1.19 ^b
2	11.75±1.03 ^a	31.50±2.18 ^a

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)



รูปที่ 2 การเกิดรากจากยอดของเจตมูลเพลิงขาว เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้นระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์; (ก) : NAA ความเข้มข้น 0 มก./ล., (ข) : NAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล., (ค) : NAA ความเข้มข้น 1 มก./ล.และ (ง) : NAA ความเข้มข้น 3 มก./ล. (Scale bars: 5 mm)

สรุปผลการวิจัย

สภาวะที่เหมาะสมของการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนตาข้างของเจตมูลเพลิงขาว คือการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารโซเดียมไฮโปคลอไรต์ ความเข้มข้น 1.24% นาน 10 นาที เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ตาข้างมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงถึง 92% และไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราเกิดขึ้น การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนตาข้างบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่สูงสุด 3.28 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ยอดมีความสูง 61.86 มม. และมีจำนวนใบมากที่สุด 8.57 ใบ และอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 2 มก./ล. สามารถชักนำให้ต้นเจตมูลเพลิงขาวเกิดรากจำนวน 11.75 ราก และมีความยาวรากสูงสุด 31.50 มม.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนทุนวิจัย และขอขอบคุณคณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ดที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- กัญญาภรณ์ พิพิธแสงจันทร์. (2561). เทคโนโลยีการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชในธนาคารเชื้อพันธุพืชกรมวิชาการเกษตร. รายงานโครงการวิจัย, กรมวิชาการเกษตร.
- เกศินี ศรีปฐมกุล, อารยา อาจเจริญ เทียนหอม และ ทศนัย จารุวัฒนพันธ์. (2563). การขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อหญ้าพันเกลียว (*Ceropegia thailandica* Meve) พืชใกล้สูญพันธุ์อย่างยิ่งในประเทศไทย. *The Journal of Science and Technology*, 9(1), 77-89. Doi:10.14456/tjst.2020.7.
- จันทร์เพ็ญ ใจชื่อ, สุรพล ฐิตินากุล, สรายุทธ อ่อนสนธิ และ เยาวพรรณ สนธิกุล. (2562). เทคนิคการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงจากธรรมชาติเพื่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. *แก่นเกษตร* 47(ฉบับพิเศษ 1), 1515-1520.
- นงนุช เลาหะวิสุทธิ, อัจฉรี เรืองเดช, สมเกียรติ สีสนอง และ สมชาย หวังวิบูลย์กิจ. (2560). ผลของสารฟอกฆ่าเชื้อและสารควบคุมการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพรรณไม้น้ำบุเชป *Bucephalandra* sp. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า*, 35(2), 95-103.
- บุญยืน กิจวิจารณ์. (2547). เทคโนโลยีเบื้องต้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อพัฒนาพืช. ขอนแก่น: ภาควิชาชีววิทยา, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ประศาสตร์ เกื้อมณี. (2538). *เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.
- พัชรียา บุญก่อแก้ว. (2560). *สารควบคุมการเจริญเติบโตในพืชสวน*. กรุงเทพฯ: บริษัทสหมิตรพรินติ้งแอนด์พับลิชิ่ง จำกัด.
- เพ็ญญา ททรัพย์เจริญ. (2542). *การแพทย์แผนไทยสายใยแห่งชีวิตและวัฒนธรรม เล่มที่ 2*. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.
- ภพเก้า พุทธรักษ์, วารุต อยู่คง และ มณฑล สงวนเสริมศรี. (2554). การขยายพันธุ์ว่านสี่ทิศโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ. *วารสารนเรศวรพะเยา*, 4(3), 3-8.
- รังสฤษฎ์ กาวีตะ. (2540). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักการและเทคนิค*. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- วราภรณ์ ภูตะลุน. (2551). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร : แนวทางการศึกษาเพื่อผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา*. ขอนแก่น: บริษัทขอนแก่นพิมพ์พัฒนา จำกัด.

- ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์. (2546). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช*. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏอุดรธานี, อุดรธานี.
- Aziz, M. H., Dreckschmidt, N. E., & Verma, A. K. (2008). Plumbagin, a medicinal plant-derived naphthoquinone, is a novel inhibitor of the growth and invasion of hormone-refractory prostate cancer. *Cancer Research*, 68, 9024-9032.
- Ceasar, S. A., Ayyanar, M., & Ignacimuthu, S. (2013). An Improved Micropropagation Protocol for *Plumbago zeylanica* L. An Important Medicinal Plant. *Asian Journal of Biological Sciences*, 6(4), 214-220.
- Chatterjee, T., & Ghosh, B. (2015). Simple Protocol for Micropropagation and In Vitro Conservation of *Plumbago zeylanica* L.: An Important Indigenous Medicinal Plant. *International Journal of Bio-resource and Stress Management*, 6(1), 068-075.
- Didry, N., Dubrevil, L., & Pinkas, M. (1994). Activity of anthroquinonic and naphthoquinonic compounds on oral bacteria. *Phamazie*, 49, 681-683.
- Gbadamosi, I. T., & Egunyomi, A. (2010). Micropropagation of *Plumbago zeylanica* L. (Plumbaginaceae) in Ibadan, Southwestern, Nigeria. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(4), 293-297.
- Pavia, S. R., Figueiredo, M. R., Aragão, T. V., & Kaplan, M. A. (2003). Antimicrobial activity *in vitro* of plumbagin isolated from *Plumbago* species. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 98(7), 959-961.
- Raja, H. D., Jenifer, A. M., Steffi, P. F., Thamilmaraiselvi, B., Srinivasan, P. & Tamilvanan, R. (2018). Micropropagation of *Plumbago zeylanica* – An important medicinal plant. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(4), 1823-1829. Doi:10.20959/wjpps20184-11467
- Sivanesan, I., & Jeong, B. R. (2009). Micropropagation of *Plumbago zeylanica* L. *African Journal of Biotechnology*, 8(16), 3761-3768.

- Taiz, L., & Zeiger, E. (2002). *Plant Physiology*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., California. 45-54 p.
- Tilak, J. C., Adhikari, S., & Devasagayam, T. P. (2004). Antioxidant properties of *Plumbago zeylanica*, an Indian medicinal plant and its active ingredient, plumbagin. *Redox Rep*, 9(4), 219-227.
- Vijay, R., Shukal, J., & Saxena, R. (2016). Micropropagation of *Plumbago zeylanica* L.: An Important Medicinal Plant of India. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, 4(6), 159-167.