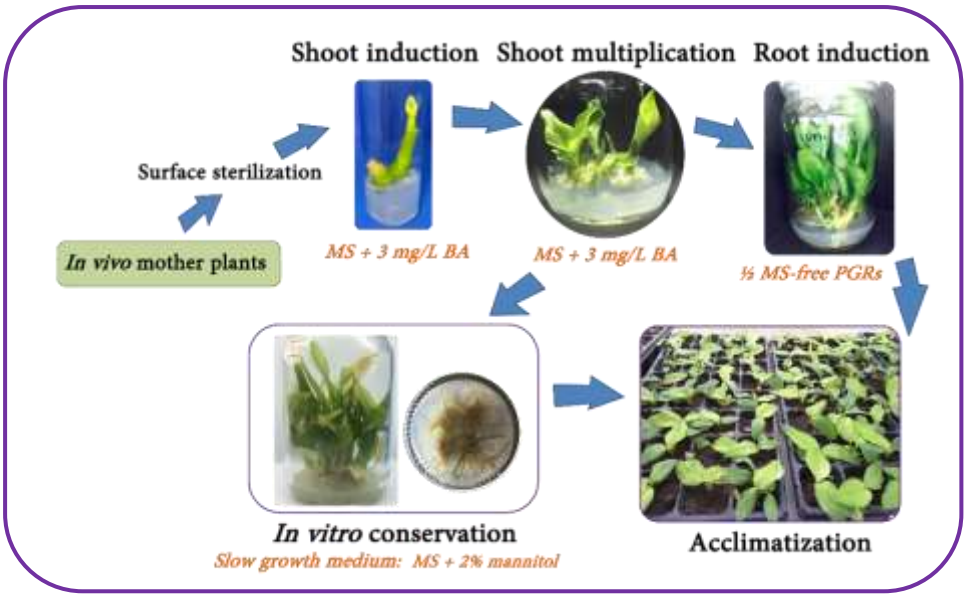
รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การขยายพันธุ์และเก็บรักษาพันธุกรรมในหลอดทดลอง
ของพืชวงศ์ขิงบางชนิดในภาคใต้

Micropropagation and *In Vitro* Conservation of Some Zingiberaceae from Southern Thailand



คณะนักวิจัย

ดร. ทัศนี ขาวเนียม

ดร. วุฒิชัย ศรีช่วย

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดินอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ (อพ.สธ.)
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ประจำปีงบประมาณ 2560 รหัสโครงการ NAT600075S

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การขยายพันธุ์และเก็บรักษาพันธุกรรมในหลอดทดลอง ของพืชวงศ์ขิงบางชนิดในภาคใต้

Micropropagation and *In Vitro* Conservation of Some Zingiberaceae from Southern Thailand

คณะนักวิจัย

ดร. ทัศนี ขาวเนียม

ดร. วุฒิชัย ศรีช่วย

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณแผ่นดินอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ (อพ.สธ.) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ประจำปีงบประมาณ 2560 รหัสโครงการ NAT600075S

ชื่อโครงการ

ภาษาไทย : การขยายพันธุ์และเก็บรักษาพันธุกรรมในหลอดทดลองของพืชวงศ์ขิงบางชนิดในภาคใต้
ภาษาอังกฤษ : Micropropagation and *In Vitro* Conservation of Some Zingiberaceae from Southern Thailand

คณะนักวิจัย และหน่วยงานต้นสังกัด

หัวหน้าโครงการ:
ชื่อ-นามสกุล นางสาวทัศนี ขาวเนียม
หน่วยงาน สาขาวิชานวัตกรรมการเกษตรและการจัดการ วิชาเอกพืชศาสตร์
คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขต หาดใหญ่ จ. สงขลา 90112
โทร 074-28-6152
Email: tassanee.kh@psu.ac.th

ผู้ร่วมโครงการ:
ชื่อ- นามสกุล นายวุฒิชัย ศรีช่วย
หน่วยงาน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์
โทร 084-195-880
Email: wutthichai.sri@hotmail.com

ที่ปรึกษาโครงการ:
ชื่อ- นามสกุล นายสมปอง เตชะโต
หน่วยงาน สาขาวิชานวัตกรรมการเกษตรและการจัดการ วิชาเอกพืชศาสตร์
คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขต หาดใหญ่ จ. สงขลา 90112
โทร 074-28-6152
Email: sompong.t@psu.ac.th

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
ชื่อโครงการและคณะนักวิจัย	ก
สารบัญ	ข
สารบัญตาราง	ค
สารบัญภาพ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
บทคัดย่อ	ฉ
Abstract	ช
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
วิธีการทดลอง	5
ผลการทดลองและวิจารณ์	8
สรุปผลการทดลอง	24
เอกสารอ้างอิง	25
ภาคผนวก	27
• บทความวิจัยที่นำเสนอที่ประชุมวิชาการ (Proceeding)	28
• ภาพประกอบการบริการวิชาการในงานเกษตรแห่งชาติและงานมหกรรมสมุนไพร	37

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	รายชื่อและที่อยู่ของพืชวงศ์ขิงบางชนิด	8
2	อัตราการปลอดเชื้อ การเกิดยอดและจำนวนยอดที่เกิดหลังจากการวางเลี้ยงชิ้นส่วนหน่องอกนอกหลอดทดลองของพืชวงศ์ขิงบางชนิด	9
3	ผลของชนิดพืชต่อการเพิ่มปริมาณยอดและรากบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร	11
4	ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและน้ำตาลแมนนิทอลต่อจำนวนยอดของเปราะหอม หลังการวางเลี้ยงเป็นเวลา 9 เดือน	13
5	ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและน้ำตาลแมนนิทอลต่อความสูงของเปราะหอม หลังการวางเลี้ยงเป็นเวลา 9 เดือน	13
6	ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและน้ำตาลแมนนิทอลต่อน้ำหนักสดของเปราะหอม หลังการวางเลี้ยงเป็นเวลา 9 เดือน	14
7	ผลของอุณหภูมิต่อการเก็บรักษาเมล็ดเทียมกระวานไทยในหลอดทดลองเป็นเวลา 6 เดือน	19
8	ผลของชนิดพืชวงศ์ขิงต่อการเก็บรักษาในหลอดทดลอง หลังจากการวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลแมนนิทอล 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 เดือน	21
9	ผลของชนิดพืชวงศ์ขิงต่อการเก็บรักษาในหลอดทดลอง หลังจากการวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลแมนนิทอล 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 6 เดือน	21

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ชิ้นส่วนยอดเริ่มต้นของเปราะหอมในการชะลอการเจริญเติบโต	6
2	ชิ้นส่วนยอดกระวานไทยที่ใช้ในการทำเมล็ดเทียม	7
3	ลักษณะของหน่องอกของพืชวงศ์ขิง 6 ชนิด ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อและยอดที่ชักนำได้จากการวางบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน	10
4	ผลของชนิดพืชต่อการเพิ่มปริมาณยอดและรากบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร	11
5	ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและน้ำตาลแมนนิทอลต่อจำนวนยอดของเปราะหอม หลังการวางเลี้ยงเป็นเวลา 9 เดือน	15
6	ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและน้ำตาลแมนนิทอลต่อความสูงของเปราะหอม หลังการวางเลี้ยงเป็นเวลา 9 เดือน	16
7	ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและน้ำตาลแมนนิทอลต่อการเกิดรากของเปราะหอม หลังการวางเลี้ยงเป็นเวลา 9 เดือน	17
8	ลักษณะของเมล็ดเทียมกระวานไทยก่อนเก็บรักษาในอุณหภูมิและระยะเวลาแตกต่างกัน	18
9	ลักษณะการเรืองแสงของชิ้นส่วนกระวานไทยในหลอดทดลอง หลังเก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกันเป็นเวลา 6 เดือน	19
10	ลักษณะของพืชวงศ์ขิงหลังวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับน้ำตาลแมนนิทอล ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์	22
11	ลักษณะรากของพืชวงศ์ขิง หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลแมนนิทอล ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 6 เดือน	23

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับสนับสนุนจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประเภททุนอนุรักษ์พันธุกรรมพืชฯ (อพ.สธ.) ประจำปีงบประมาณ 2560 และ 2562 รหัสโครงการ NAT600075S ซึ่งรายงานฉบับนี้ประกอบด้วยเนื้อหางานวิจัยที่เกี่ยวกับการขยายพันธุ์พืชวงศ์ขิงบางชนิดที่พบในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย โดยการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้ามาช่วยในการขยายพันธุ์ ตลอดจนการเก็บรักษาพันธุกรรมพืชในหลอดทดลองด้วยวิธีการชะลอการเจริญเติบโตของพืชโดยไม่มีการเปลี่ยนถ่ายอาหาร เพื่อเป็นแหล่งพันธุกรรมพืชสมุนไพร

ผู้จัดทำขอขอบคุณทีมงานนางสาวอภิชญา นุกูลรัตน์ นางสาวกมลทิพย์ ไหลไผ่ทอง และสมาชิกห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืชปลูกในการจัดทำงานวิจัยฉบับนี้ และขอขอบคุณในความอนุเคราะห์ท่อนพันธุ์จากศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง จ.ตรัง ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรปัตตานี จ.ปัตตานี และเกษตรกรผู้ปลูกสมุนไพร ทั้งนี้ ทางคณะผู้จัดทำมีความประสงค์เป็นอย่างยิ่งว่ารายงานฉบับนี้จะเป็นประโยชน์แก่บุคคลทั้งในหน่วยงานราชการและเอกชนที่มีความสนใจ และบุคคลทั่วไป หากรายงานฉบับนี้มีข้อผิดพลาดประการใดผู้จัดทำต้องขออภัยไว้ ณ ที่นี้ ด้วย

คณะผู้วิจัย

การขยายพันธุ์และเก็บรักษาพันธุกรรมในหลอดทดลองของพืชวงศ์ขิงบางชนิดในภาคใต้

บทคัดย่อ

พืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) มีประโยชน์มากมายหลายประการ การปลูกในภาคใต้ส่วนใหญ่เป็นการปลูกเพื่อใช้ประกอบอาหาร และการส่งเสริมให้มีการปลูกพืชวงศ์ขิงเพื่อเป็นการอนุรักษ์มีน้อย อาจส่งผลให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชวงศ์ขิงในภาคใต้ลดน้อยลง ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงสนใจวิธีการขยายพันธุ์และเก็บรักษาพันธุกรรมของพืชวงศ์ขิงในหลอดทดลอง จากการเก็บรวบรวมพืชวงศ์ขิงจาก 4 จังหวัด 14 ชนิด โดยมีเพียง 5 ชนิด ที่มีอัตราการปลอดเชื้อ 50-100 เปอร์เซ็นต์ และให้อัตราการสร้างยอด 100 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ย 1.5–4.0 ยอดต่อชิ้นส่วน จากการศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดและรากหลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า พืชวงศ์ขิง ทั้ง 3 ชนิด คือ เปราะหอม ขมิ้นชัน และขมิ้นขาว ให้เปอร์เซ็นต์การแตกยอดและความยาวยอดเฉลี่ย ที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยให้การแตกยอดอยู่ที่ 95-100 เปอร์เซ็นต์ และความยาวยอดเฉลี่ยของทั้งสามชนิด 2.49-3.15 เซนติเมตร แต่สำหรับจำนวนยอด พบว่า เปราะหอมให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 3.33 ยอดต่อชิ้นส่วน นอกจากนี้ ทั้งเปราะหอมและขมิ้นชันให้เปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงสุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ ขมิ้นขาวให้จำนวนรากสูงสุดถึง 7.38 รากต่อต้น แต่มีความยาวรากเฉลี่ยเพียง 1.17 เซนติเมตร แตกต่างกันทางสถิติกับพืชชนิดอื่น ๆ สำหรับการเก็บรักษาพันธุกรรมพืชในหลอดทดลอง พบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของเปราะหอมบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลแมนนิทอล 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 9 เดือน โดยไม่ทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ ให้การชะลอการเจริญเติบโตเหมาะสมที่สุด โดยให้จำนวนยอดเฉลี่ย 7.38 ยอดต่อกอ และความยาวยอดเฉลี่ย 7.38 เซนติเมตร

คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช, การเก็บรักษาพันธุกรรม, พืชวงศ์ขิง

Micropropagation and *In Vitro* Conservation of Some Zingiberaceae from Southern Thailand

Abstract

Zingiberaceae has many benefits. The cultivation of the Southern region is used for mainly cooking, but encouraging the cultivation of Zingiberaceae in order to be less conservation. This reason decreased in genetic diversity of some Zingiberaceae in Southern region. So, the objectives of this study were to develop method of propagation and *in vitro* conservation. The explants were collected from 4 province with 14 species, whereas only 5 species can be sterilized about 50-100 percent and gave the result in shoot induction at 100 percent and shoot number about 1.5-4 shoots/explant. For shoot and root induction on MS medium supplemented with 3 mg/L BA after 1 month of culture, the result showed that 3 species (*Kaempferia galangal, Curcuma longa* L. and *Curcuma mangga* Valeton & Zijp) gave the best results in shoots induction at 95-100% and shoot length of all three species range at 2.49-3.15 cm. But *K. galangal* gave the highest number of shoots at 3.33 shoots/explant. In addition, *K. galangal* and *C. mangga* gave the highest percentage of root induction (100) while *C. mangga* gave the highest number of roots at 7.38 roots/explant and root length at 1.17 cm. For *in vitro* conservation of *K. galangal*, the result found that shoots cultured on MS medium supplemented with 2% mannitol for 9 months without subculturing gave the suitable results in slow growth on shoot number at 7.38 shoots/clump and shoot length at 7.38 cm.

Keywords: plant tissue culture, slow growth condition, family Zingiberaceae

บทนำ

พืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีการใช้ประโยชน์มาช้านาน เนื่องจากความพิเศษของทุกส่วนของต้นที่มีกลิ่นของน้ำมันหอมระเหย โดยนำมาประกอบอาหาร เช่น ขิง (*Zingiber officinale*) ข่า (*Alpinia galanga*) กระวานไทย (*Amomum testaceum*) เปราะหอม (*Kaempferia galanga* Linn.) มีสรรพคุณเป็นสมุนไพรบำรุงรักษาโรค เช่น ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) ว่านชักมดลูก (*C. zanthorhiza*) ขมิ้นขาว (*C. mangga* Valeton & Zijp) มหาหงส์ (*Hedychium coronarium* Koen.) และนำมาใช้เป็นไม้ดอกและไม้ประดับ เช่น ดาหลา [*Etlingera littoralis* (Koenig) Giseke] ปทุมมา (*C. alismatifolia* Gagnap.) และกระเจียว (*C. parviflora* Wall.) เป็นต้น โดยผลิตออกสู่ตลาดเพื่อเป็นสินค้าใช้ภายในและส่งออกนอกประเทศได้ จากการตรวจสอบการกระจายพันธุ์ของพืชวงศ์นี้ พบว่า ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความหลากหลายของชนิดสูงมาก โดยมีประมาณ 25 สกุล 270 ชนิด (Larsen, 2002) สามารถพบได้บริเวณกว้างตั้งแต่ความสูงระดับต่ำสุดจนถึงระดับสูง 2,000 เมตรจากระดับน้ำทะเล แต่เนื่องจากหลักฐานการใช้ประโยชน์จำกัดอยู่ในบางชนิดที่ใช้ในชีวิตประจำวัน และการปลูกในภาคใต้ส่วนใหญ่เป็นการปลูกเพื่อใช้ประกอบอาหาร เช่น ข่า ขมิ้นเหลือง ขมิ้นแกง เป็นต้น ประกอบกับการส่งเสริมให้มีการปลูกเพื่อเป็นการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมมีน้อย อาจส่งผลให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชวงศ์ขิงในภาคใต้ลดน้อยลง ทั้งนี้ความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชเป็นสิ่งสำคัญในการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์พืช เนื่องจากในปัจจุบันโลกมีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว ทำให้สิ่งแวดล้อมถูกทำลายมากขึ้น ส่งผลให้พืชวงศ์นี้ทั้งที่ใช้ประโยชน์และยังไม่มีการประโยชน์อาจเกิดการละเลยและสูญหายได้ ดังนั้นการตระหนักถึงความสำคัญของการเก็บรักษาพันธุ์พืชจึงเป็นสิ่งจำเป็น การเก็บรักษาพันธุ์พืชนั้นมีด้วยกัน 2 วิธี คือ *in situ* และ *ex situ* ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับธรรมชาติของพืชนั้น ๆ (จรัสศรี, 2548) การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชในระยะยาว (long term storage) สามารถทำได้ทั้งในและนอกหลอดทดลอง ซึ่งการเก็บรักษาในสภาพนอกหลอดทดลองมีข้อจำกัดในเรื่องค่าใช้จ่ายในการดูแลรักษา การเปลี่ยนแปลงของสภาพอากาศ และพื้นที่เก็บรักษาต้องมีขนาดใหญ่ จากเหตุผลดังกล่าวทำให้การเก็บรักษาในหลอดทดลองเป็นอีกหนึ่งวิธีที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช เนื่องจากไม่มีข้อจำกัดในเรื่องดังกล่าว สามารถใช้ชิ้นส่วนพืชหลายชนิด ได้แก่ หน่องอก (sprout rhizome) แคลลัส เอ็มบริโอเจนิคแคลลัส โซมาติกเอ็มบริโอ เซลล์ซัสเพนชัน และเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดหรือปลายราก เป็นต้น

ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงสนใจวิธีการขยายพันธุ์และเก็บรักษาพันธุกรรมพืชในหลอดทดลอง โดยศึกษาถึงปัจจัยต่าง ๆ และวิธีการเก็บที่เหมาะสม เพื่อเป็นแหล่งพันธุกรรมพืชวงศ์ขิงบางชนิด และเป็นแนวทางในการศึกษาทางด้านปรับปรุงพันธุ์พืช และการใช้ประโยชน์ทางด้านเภสัชวิทยาต่อไปในอนาคต

วัตถุประสงค์

1. เพื่อสนองพระราชดำริในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.)
2. เพื่อเก็บรวบรวมเชื้อพันธุกรรมของพืชวงศ์ขิงที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและเภสัชวิทยาในพื้นที่จังหวัดภาคใต้
3. เพื่อศึกษาปัจจัยและวิธีการเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชวงศ์ขิงในหลอดทดลองโดยการชะลอการเจริญเติบโต

การตรวจเอกสาร

1. การขยายพันธุ์พืชวงศ์ขิงในหลอดทดลอง

พืชวงศ์ขิงส่วนใหญ่นิยมขยายพันธุ์โดยใช้ส่วนของลำต้นใต้ดินที่เรียกว่า rhizome นอกจากนี้มีรายงานการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเป็นการเพิ่มปริมาณต้นกล้าพันธุ์และการผลิตต้นพันธุ์ปลอดโรค โดย Abdelmageed และคณะ (2011) ศึกษา การขยายพันธุ์ *Etlingera elatior* ในหลอดทดลอง โดยนำชิ้นส่วนของตาข้าง มาฟอกฆ่าเชื้อและเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เติมน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ และเติม BA และ IAA ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน พบว่า การเติมBA ความเข้มข้น 22.2 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนยอดสูงสุด 3.67 ยอดต่อชิ้นส่วน และการเติม IAA ความเข้มข้น 11.4 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนราก 3 รากต่อต้น อัตรารอดชีวิตหลังจากการย้ายเลี้ยงในแปลงปลูก เท่ากับ 75 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีรายงานผลสำเร็จจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของหน่องอกของขมิ้นชันโดยนักวิจัยอื่น ๆ อีกหลายท่าน ส่วนใหญ่เป็นการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ BA และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ (Anchalee, 2012; Sharma *et al.,* 2013)

2. การเก็บรักษาพันธุกรรมพืชในหลอดทดลอง

การเก็บรักษาพันธุกรรมโดยการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีการหนึ่งในการลดปัญหาในพืชบางชนิดที่ไม่สามารถเก็บรักษาในรูปของเมล็ด เช่น กล้วย เป็นต้น และพืชที่ขยายพันธุ์โดยใช้ส่วนอื่นที่ไม่ใช่เมล็ด (Vegetative – propagated crop) เช่น อ้อย มันสำปะหลัง มันฝรั่ง หน่อไม้ฝรั่ง เป็นต้น วิธีการเก็บรักษาพืชทำได้โดยการวางเลี้ยงในอาหารที่ให้การเจริญปกติและชะลอการเจริญเติบโต ซึ่งการชะลอการเจริญเติบโตสามารถทำได้หลายวิธีคือ การใช้อุณหภูมิต่ำ การลดปริมาณสารอาหาร (Withers, 1991) การใช้สารยับยั้งกระบวนการออสโมซิส การใช้สารชะลอการเจริญเติบโต และการลดอัตราการหายใจ ทั้งนี้อุณหภูมิเป็นปัจจัยหนึ่งในการควบคุมขบวนการเมตาโบลิซึม และปฏิกิริยาเคมีภายในเซลล์พืช ซึ่งจะส่งผลออกมาในรูปของการเจริญเติบโต (จินดา, 2524) การเก็บรักษาสามารถที่จะอนุรักษ์ได้ตั้งแต่ระดับเซลล์ เนื้อเยื่อ อวัยวะ และต้นอ่อนในหลอดทดลอง เป็นวิธีการที่นิยมใช้มากเนื่องจากใช้พื้นที่แรงงาน และการดูแลรักษาน้อย ลดการเสี่ยงอันเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ การทำลายของศัตรูพืชและการดูแลรักษาที่ไม่เหมาะสม นอกจากนี้ยังสะดวกในการแลกเปลี่ยนเชื้อพันธุ์พืชระหว่างประเทศ เนื่องจากขนาดเล็กและสะดวกในการขนส่ง (ครรชิต, 2541)

มณฑา (2540) รายงานว่าการเก็บรักษาพันธุ์พืชในระยะสั้น เป็นการเก็บรักษาพันธุ์พืชในสภาพการเจริญปกติ เมื่อเนื้อเยื่อเจริญถึงระดับหนึ่ง ต้องตัดแยกเนื้อเยื่อและทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ ทำให้ต้องเสียเวลาและสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการตัดแยกและเปลี่ยนอาหารให้แก่เนื้อเยื่อบ่อยๆ โดยเฉลี่ยเนื้อเยื่อจะอยู่ได้เพียง 1-2 เดือน ก็ต้องตัดแยกเนื้อเยื่อและเปลี่ยนอาหารใหม่ ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดพืชที่ทำการเก็บรักษา Villalobos และคณะ (1991) รายงานว่า ในช่วงการเพาะเลี้ยงจะมีการกลายพันธุ์และการคัดเลือกเกิดขึ้น ซึ่งจะสูญเสีย totipotency ดังนั้น การทดลองจึงนิยมให้มีการชะลอการเจริญเติบโตเพื่อเป็นการลดลงจำนวนครั้งของการย้ายเลี้ยงเนื้อเยื่อ (subculture) แต่การเพาะเลี้ยงต้องการลดจำนวนครั้งโดยจำกัดการเจริญเติบโตและขยายช่วงเวลาการย้ายออกไป ซึ่งมีผลดีต่อการคงที่ของเนื้อเยื่อตั้งแต่การลดลงของอัตราการแบ่งเซลล์ที่มีผลต่อการลดความถี่ของการกลายพันธุ์ ที่สามารถเกิดขึ้นได้ในช่วง duplication ของ DNA ในระยะ mitotic phase ของวงจรชีวิตเซลล์ ความสำคัญของการประยุกต์ใช้โดยการยับยั้งการ

เจริญเติบโต จะต้องคำนึงถึงความสามารถของการรักษาความมีชีวิตสูงสุดในการเพาะเลี้ยง ซึ่งก็คือการที่พืชสามารถฟื้นคืนสู่สภาพปกติได้เมื่อต้องการ

Bekheet และคณะ (2002) ศึกษาการเก็บรักษาปลายยอดในหลอดทดลองของอินทผลัมในอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ในสภาพมืด ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชได้นาน 12 เดือน ให้อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนสูง 70 เปอร์เซ็นต์ และการเจริญเติบโตของยอดที่ดี 50 เปอร์เซ็นต์ ในขณะเดียวกัน เก็บรักษาแคลลัสของอินทผลัมในอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2-ip เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสภาพเดียวกันกับข้างต้น พบว่าสามารถเก็บรักษาชิ้นส่วนได้นาน 9 เดือน ทำให้น้ำหนักสดของชิ้นส่วนลดลงหลังจากการเก็บรักษา 6 เดือน และชิ้นส่วนมีสีน้ำตาลมากขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น Bekheet และคณะ (2005) ทำการเก็บรักษาระยะต่าง ๆ ของโซมาติกเอ็มบริโอของอินทผลัม โดยการหุ้มชิ้นส่วนด้วยวุ้นโซเดียมแอลจิเนต พบว่า การหุ้มโซมาติกเอ็มบริโอระยะปลายสร้างใบเลี้ยงด้วยวุ้นโซเดียมแอลจิเนตความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส นาน 12 เดือน ให้การรอดชีวิตของชิ้นส่วนสูงที่สุด 75 เปอร์เซ็นต์ และการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ 75 เปอร์เซ็นต์ สำหรับพืชวงศ์ขิง Mohanty และคณะ (2014) รายงานว่า การอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิงจำนวน 9 ชนิดที่เก็บรวบรวมในบริเวณภาคตะวันออกของประเทศอินเดีย ได้แก่ *Z. rubens Z. zerumbet C. aromatica C. amada C. caesia K. galanga A. galanga H. coronarium และ G. marantina* เก็บรักษาโดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และที่ลดองค์ประกอบของสูตรอาหารลงครึ่งหนึ่ง ร่วมกับการเพิ่มหรือลดความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสและแมนนิทอล สามารถเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชโดยไม่มีการย้ายเลี้ยงได้นานถึง 8-12 เดือน และให้อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนอยู่ในช่วง 50-90 เปอร์เซ็นต์

วิธีการทดลอง

1. การคัดเลือกและรวบรวมพืชวงศ์ขิง ขิง

เก็บรวบรวมพืชตระกูลขิงที่มีการปลูกโดยทั่วไปและจากศูนย์วิจัยพืชสวนในพื้นที่จังหวัดภาคใต้ จำนวน 4 จังหวัด ได้แก่ ตรัง พัทลุง สงขลา และปัตตานี โดยรวบรวมพืชจำนวน 14 ชนิด อย่างน้อยชนิดละ 5 ตัวอย่าง

2. การเตรียมชิ้นส่วนพืชและการชักนำยอดในหลอดทดลอง

นำหน่ออ่อนของไพลเหลือง ไพลดำ ขมิ้นชัน กระวานไทย ว่านนางคำ ว่านลอนทอง กระชาย กระชายดำ เปราะหอม ว่านชักมดลูกตัวเมีย ขิงแดง กระทือ ข่าหยวก และขมิ้นขาว มาผ่านกระบวนการฟอกฆ่าเชื้อ โดยการล้างด้วยน้ำยาล้างทำความสะอาด แล้วตามด้วยน้ำประปาไหลผ่านเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นจุ่มในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที แช่ในสารละลายคลอร็อกซ์เข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ Tween 20 เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ภายในตู้ปลอดเชื้อ จากนั้นฟอกฆ่าเชื้ออีกครั้งด้วยสารละลายคลอร็อกซ์เข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง แล้วนำชิ้นส่วนหน่องอกมาตัดแต่งให้มีขนาด 0.5 ตารางเซนติเมตร ก่อนวางเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ (อาหารสูตรชักนำยอด) หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ตรวจสอบอัตราการปลอดเชื้อของชิ้นส่วน และหลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน จึงตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด และจำนวนยอดที่เกิด/ชิ้นส่วน

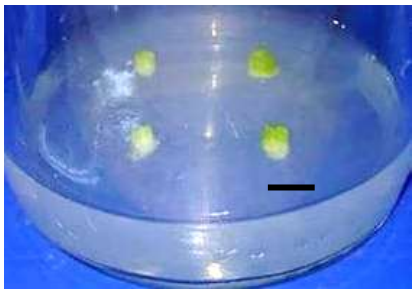
3. ผลของชนิดพืชต่อการเพิ่มปริมาณยอดและรากในหลอดทดลอง

นำหน่ออ่อน ขมิ้นชัน เปราะหอมและขมิ้นขาว มาผ่านกระบวนการฟอกฆ่าเชื้อ โดยการล้างด้วยทีโพลแล้วตามด้วยน้ำประปาไหลผ่านเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นจุ่มในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที แช่ในสารละลายคลอร็อกซ์เข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ Tween 20 เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ภายในตู้ปลอดเชื้อ จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอร็อกซ์เข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ภายในตู้ปลอดเชื้อ แล้วนำชิ้นส่วนหน่อมาตัดแต่งให้มีขนาด 0.5 ตารางเซนติเมตร ก่อนเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ ปรับความเป็นกรดด่าง 5.7 และผงวุ้น 0.7 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน นำยอดที่ได้ย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิม เป็นเวลาอีก 1 เดือน แล้วบันทึกอัตราการเกิดยอด จำนวนยอด ความยาวยอด อัตราการเกิดราก จำนวนราก และความยาวราก วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan multiple range test (DMRT)

4. ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและน้ำตาลแมนนิทอลต่อการชะลอการเติบโตของเปราะหอม

ตัดปลายยอดเปราะหอมขนาด 0.5 เซนติเมตร (ภาพที่ 1) วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS หรือ MS ที่ลดองค์ประกอบของธาตุอาหารลงหนึ่งในสอง (1/2) และหนึ่งในสี่ (1/4) ร่วมกับการเติมน้ำตาล

แมนนิทอลความเข้มข้น 0 1 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ เติมน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ ปรับความเป็นกรดด่าง 5.7 และผงวุ้น 0.7 เปอร์เซ็นต์ วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 9 เดือน บันทึกอัตราการสร้างยอดรวม จำนวนยอดรวม ความสูงยอด อัตราการสร้างราก และจำนวนราก วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียลใน CRD มี 2 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของน้ำตาลแมนนิทอล และ ความเข้มข้นของสูตรอาหาร แต่ละทรีตเมนท์ทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 3 ขวด ๆ ละ 4 ชิ้นส่วน



ภาพที่ 1 ชิ้นส่วนยอดเริ่มต้นของเปราะหอมในการชะลอการเจริญเติบโต (บาร์ = 0.5 เซนติเมตร)

5. ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาเมล็ดเทียมกระวานไทยในหลอดทดลอง

นำชิ้นส่วนยอดของกระวานไทยจากกลุ่มของยอดที่เพิ่มปริมาณบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน (ภาพที่ 2ก, 2ข) ตัดให้มีขนาด 2-3 มิลลิเมตร (ภาพที่ 2ค) จุ่มแช่ในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมโซเดียมอัลจิเนตเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นหยดปลายยอดกระวานไทยลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที เพื่อให้ได้เมล็ดเทียมที่มีลักษณะกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 มิลลิเมตร ล้างเมล็ดเทียมในน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ และซับให้แห้ง จากนั้นนำเมล็ดเทียมที่ได้แบ่งไว้ใส่ในหลอด Cryotube (5 เมล็ดต่อหลอด) เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 4 -20 -30 และ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 12 เดือน เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำเมล็ดเทียมออกมาตรวจสอบความมีชีวิตด้วยการย้อมด้วยสี Fluorescein diacetate (FDA) แล้วบันทึกอัตราการรอดชีวิต วางแผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT แต่ละทรีตเมนท์มี 5 ซ้ำ ๆ ละ 1 หลอด ๆ ละ 5 เมล็ด

ภาพที่ 2 ชิ้นส่วนยอดกระวานไทยที่ใช้ในการทำเมล็ดเทียม (บาร์ = 0.5 เซนติเมตร)
(ก) กลุ่มยอดก่อนตัดแยก (ข) ยอดเดี่ยว ๆ (ค) ชิ้นส่วนยอดก่อนหุ้มด้วยวุ้นโซเดียมแอลจิเนต

6. ผลของพันธุกรรมต่อการเก็บรักษาในหลอดทดลองของพืชวงศ์ขิง

นำยอดของพืชวงศ์ขิงจำนวน 4 ชนิด (เปราะหอม ขิงแดง กระวานไทย และว่านนางคำ) ที่เพิ่มปริมาณบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน ตัดให้มีขนาด 0.5 เซนติเมตร และวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับน้ำตาลแมนนิทอลความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (ผลที่เหมาะสมที่สุดจากการศึกษาที่ 5) เติมน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ ปรับความเป็นกรดด่าง 5.7 และผงวุ้น 0.7 เปอร์เซ็นต์ วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 10 ชั่วโมงต่อวัน หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน และ 6 เดือน บันทึกอัตราการสร้างยอด จำนวนยอด อัตราการสร้างราก และจำนวนราก วางแผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT แต่ละทรีตเมนท์มี 5 ซ้ำ ๆ ละ 1 ขวด ๆ ละ 4 ชิ้นส่วน

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การคัดเลือกและรวบรวมพืชวงศ์ขิง

จากการรวบรวมพืชวงศ์ขิง ทั้งหมด 14 ชนิด จากสถานที่และจังหวัดในพื้นที่ภาคใต้จำนวน 4 จังหวัด คือ ไพลเหลือง ไพลดำ ขมิ้นชันพันธุ์ตรัง 1 กระวานไทย ว่านนางคำ ว่านลอนทอง (ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง จ.ตรัง) กระชาย และกระชายดำ (อ.เมือง จ.ตรัง) เปราะหอม (อ.รัตภูมิ จ.สงขลา) ว่านชักมดลูกตัวเมีย ขิงแดง และกระทือ (อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา) ข่าหยวก (ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรปัตตานี จ.ปัตตานี) และขมิ้นขาว (อ.ป่าบอน จ.พัทลุง) (ตารางที่ 1) โดยนำเหง้าพันธุ์มาปลูกอนุบาล และดูแลรักษาเพื่อเป็นแหล่งวัสดุพืชไว้ใช้ในการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 1 รายชื่อและแหล่งที่อยู่ของพืชวงศ์ขิงบางชนิดในพื้นที่ภาคใต้ของประเทศไทย

ลำดับที่	ชนิดพืช	แหล่งที่อยู่ของพืช
1	ไพลเหลือง	ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง จ.ตรัง
2	ไพลดำ	ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง จ.ตรัง
3	ขมิ้นชันพันธุ์ ตรัง1	ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง จ.ตรัง
4	กระวานไทย	ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง จ.ตรัง
5	ว่านนางคำ	ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง จ.ตรัง
6	ว่านลอนทอง	ศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง จ.ตรัง
7	กระชาย	อ.เมือง จ.ตรัง
8	กระชายดำ	อ.เมือง จ.ตรัง
9	เปราะหอม	อ.รัตภูมิ จ.สงขลา
10	ว่านชักมดลูกตัวเมีย	อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา
11	ขิงแดง	อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา
12	กระทือ	อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา
13	ข่าหยวก	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรปัตตานี จ.ปัตตานี
14	ขมิ้นขาว	อ.ป่าบอน จ.พัทลุง

2. การเตรียมชิ้นส่วนพืชและการชักนำยอดในหลอดทดลอง

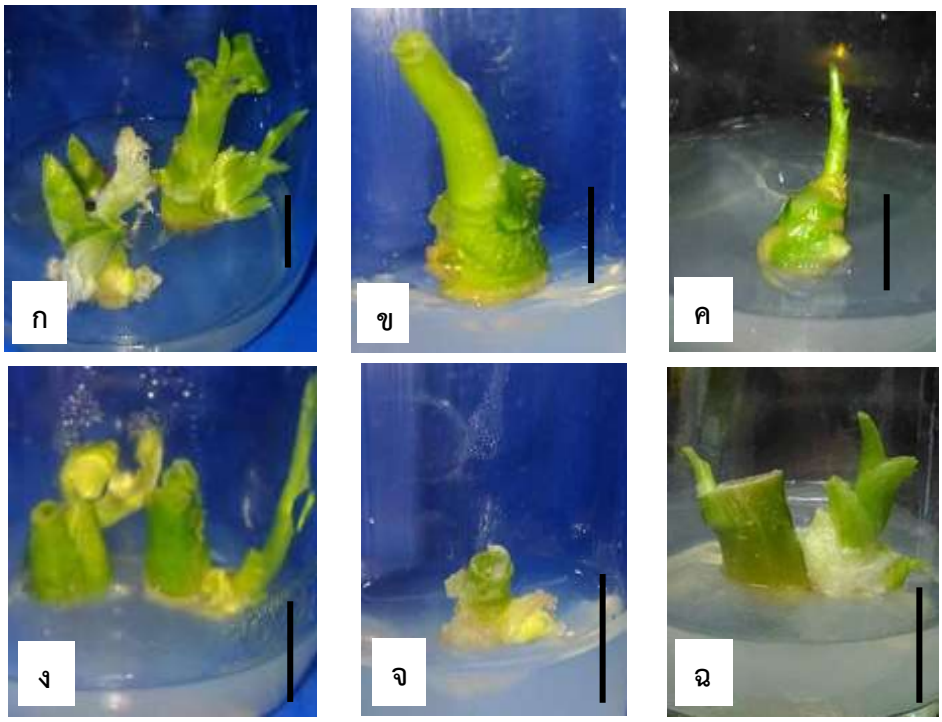
จากการเตรียมชิ้นส่วนพืชโดยผ่านการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนหน่องอกเริ่มต้นและวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ว่านชักมดลูกตัวเมียให้อัตราการปลอดเชื้อของชิ้นส่วนสูงที่สุด 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ขมิ้นชัน ไพลเหลือง เปราะหอม และขมิ้นขาว ให้อัตราการปลอดเชื้อ 73.5 62.5 50 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนไพลดำ กระวานไทย กระชาย กระชายดำ และข่าหยวกไม่พบการปลอดเชื้อเลย สำหรับการชักนำยอดรวม พบว่า ทุกชนิดพืชที่ปลอดเชื้อให้อัตราการเกิดยอด 100 เปอร์เซ็นต์ และมีจำนวนยอดอยู่ในระหว่าง 1.0-4 ยอดต่อชิ้นส่วน โดยขมิ้นชันให้จำนวนยอดสูงที่สุด 4 ยอดต่อชิ้นส่วน นอกจากนี้ยังเห็นได้ว่า พืชบางชนิดที่พบการปนเปื้อน 100 เปอร์เซ็นต์ แต่สามารถเกิดยอดได้ คือ ว่านนางคำ ว่านลอนทอง ขิงแดง และกระทือ โดยให้จำนวนยอดเฉลี่ย 1.00 -

2.11 ยอดต่อชิ้นส่วน (ไม่แสดงผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติเนื่องจากจำนวนชิ้นส่วนที่น้อยเกินไป) (ตารางที่ 2 และภาพที่ 3) ทั้งนี้เนื่องจากการปนเปื้อนที่เกิดขึ้นเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ตรงบริเวณส่วนฐานของชิ้นส่วน ซึ่งทำให้ชิ้นส่วนสามารถมีชีวิตและเกิดยอดได้

ตารางที่ 2 อัตราการปลอดเชื้อ การเกิดยอดและจำนวนยอดที่เกิดหลังจากการวางเลี้ยงชิ้นส่วนหน่องอกนอกหลอดทดลองของพืชวงศ์ขิง บางชนิด บนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน

ชนิดพืช	อัตราการปลอดเชื้อ (%)	การเกิดยอด (%)	จำนวนยอดเฉลี่ย/ชิ้นส่วน
ไพลเหลือง	62.5	100	2.33
ไพลดำ	0	-	-
ขมิ้นชัน	73.5	100	4
กระวานไทย	0	-	-
ว่านนางคำ	0	100	1
ว่านลอนทอง	0	69.23	2.11
กระชาย	0	-	-
กระชายดำ	0	-	-
เปราะหอม	50	100	3
ว่านชักมดลูกตัวเมีย	100	100	3
ขิงแดง	0	50	1
กระทือ	0	44.44	1.13
ข่าหยวก	0	-	-
ขมิ้นขาว	50	100	1.5

- ไม่สามารถบันทึกข้อมูล



ภาพที่ 3 ลักษณะของหน่องอกของพืชวงศ์ขิง 6 ชนิด ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อและยอดที่ชักนำได้จากการวางบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 1 เซนติเมตร)

(ก) ไพลเหลือง (ข) ว่านนางคำ (ค) ว่านลอนทอง
(ง) ว่านชักมดลูกตัวเมีย (จ) ขิงแดง (ฉ) กระทือ

3. ผลของชนิดพืชต่อการเพิ่มปริมาณยอดและรากในหลอดทดลอง

การเพิ่มปริมาณยอดและรากบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน ของพืชวงศ์ขิง ทั้ง 3 ชนิดคือ ขมิ้นชัน เปราะหอม และขมิ้นขาว ให้เปอร์เซ็นต์การเพิ่มยอดและความยาวยอดเฉลี่ย ที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยให้การแตกยอดอยู่ที่ 95-100 เปอร์เซ็นต์ และความยาวยอดเฉลี่ยของทั้งสามชนิด 2.49-3.15 เซนติเมตร แต่สำหรับจำนวนยอด พบว่า เปราะหอมให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 3.33 ยอดต่อชิ้นส่วน รองลงมาคือ ขมิ้นขาวให้จำนวนยอด 2.33 ยอดต่อชิ้นส่วน และขมิ้นชันให้จำนวนยอด 1.68 ยอดต่อชิ้นส่วน นอกจากนี้ ทั้งเปราะหอมและขมิ้นขาวให้เปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงสุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ขมิ้นขาวให้จำนวนรากสูงสุดถึง 7.38 รากต่อต้น แต่มีความยากรากเฉลี่ยเพียง 1.17 เซนติเมตร แตกต่างกันทางสถิติกับพืชชนิดอื่น ๆ (ตารางที่ 3 และภาพที่ 4) เช่นเดียวกับการทดลองของ กมลทิพย์ และคณะ (2561) ศึกษาการชักนำยอดของกระชายดำบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิดยอดสูงสุด 95 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดสูงสุด 3.75 ยอดต่อชิ้นส่วน และความสูงยอด 4.78 เซนติเมตร นอกจากนี้ Shukla และคณะ (2007) พบว่า การวางเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดของ *C. angustifolia* Roxb. บนอาหารสูตร MS ร่วมกับ BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ ให้อัตราการเกิดยอดสูงสุด 80 เปอร์เซ็นต์ และมีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 6.9 ยอดต่อชิ้นส่วน ในขณะที่การศึกษาของ Jitsopakul และคณะ (2017) พบว่า การเติม BA

เพียง 2 มิลลิกรัมต่อลิตรในการชักนำยอดของ *C. singularis* Gagnep. และ *K. galanga* Linn. เป็นเวลา 3 เดือน ให้จำนวนยอดสูงสุด 4.5 และ 9 ยอดต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ ส่วน *Zingiber officinale* Rosc. สามารถชักนำได้ถึง 11 ยอดต่อชิ้นส่วน ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA เพียง 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งนี้จากการศึกษาเห็นได้ว่า ถึงแม้จะเป็นพืชวงศ์เดียวกัน แต่พืชต่างชนิดกัน ให้การตอบสนองในการเกิดยอดและรากที่ต่างกัน

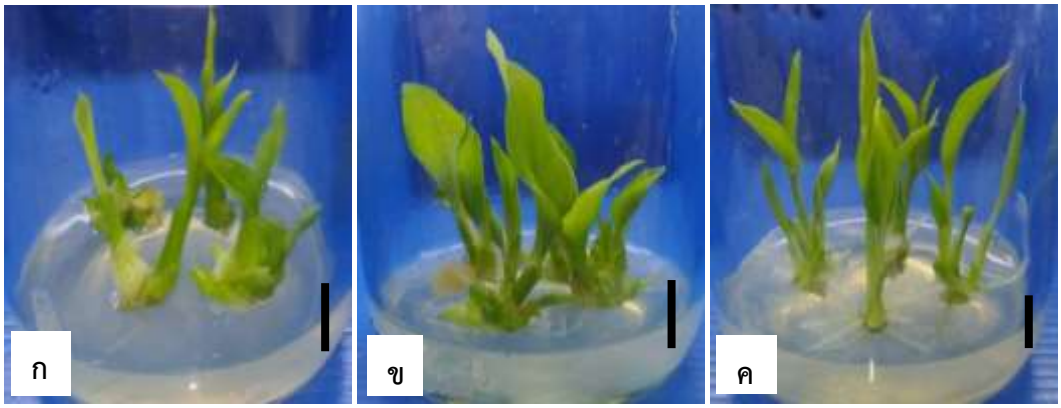
ตารางที่ 3 ผลของชนิดพืชต่อการเพิ่มปริมาณยอดและรากบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

ชนิดพืช	การเกิดยอด (%)	จำนวนยอด (ยอด/ชิ้นส่วน)	ความยาวยอด (ซม)	การชักนำราก (%)	จำนวนราก (รากต่อยอด)	ความยาวราก (ซม)
ขมิ้นชัน	95.83	1.68b	2.78	33.33b	1.67b	1.60a
เปราะหอม	100.00	3.33a	2.49	100.00a	3.25b	1.67a
ขมิ้นขาว	100.00	2.33b	3.15	100.00a	7.38a	1.17b
F-test	ns	**	ns	**	**	*
C.V. (%)	5.98	22.83	18.96	32.5	23.04	18.31

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

*,** แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ $p \leq 0.05$ และ $p \leq 0.01$ ตามลำดับ

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 4 ผลของชนิดพืชต่อการเพิ่มปริมาณยอดและรากบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 1 เซนติเมตร)
(ก) ขมิ้นชัน (ข) เปราะหอม (ค) ขมิ้นขาว

4. ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและน้ำตาลแมนนิทอลต่อการชะลอการเติบโตของเปราะหอม

จากการศึกษาพบว่า ทุกทรีตเมนท์ให้การเกิดยอด 100 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 9 เดือน โดยไม่เปลี่ยนถ่ายอาหาร เมื่อตรวจสอบปัจจัยด้านความเข้มข้นของสูตรอาหารต่อจำนวนยอดและความสูงยอด พบว่า อาหารสูตร ¼ MS ให้จำนวนยอดและความสูงเฉลี่ยน้อยที่สุด 5.27 ยอดต่อกอ และ 5.71 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนอาหารสูตร MS ให้จำนวนยอด (6.33 ยอดต่อกอ) และความยาวยอด

สูงสุด (9.17 เซนติเมตร) แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง สำหรับปัจจัยด้านความเข้มข้นของน้ำตาลแมนนิทอล พบว่า การเติมน้ำตาลแมนนิทอลที่ความเข้มข้นสูงขึ้น ช่วยให้เปราะหอมมีจำนวนยอดเพิ่มขึ้น แต่ความยอดน้อยลง โดยมีจำนวนยอดสูงสุดที่น้ำตาลแมนนิทอลความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (6.72 ยอดต่อกอ) (ตารางที่ 4, ภาพที่ 5) ในขณะที่ความยาวยอดต่ำสุดเมื่อเติมน้ำตาลแมนนิทอล 3 เปอร์เซ็นต์ (4.30 เซนติเมตร) และพบลักษณะใบซีดมากกว่าทรีตเมนท์อื่นๆ (ตารางที่ 5, ภาพที่ 6) และพบว่าความเข้มข้นของสูตรอาหารมีปฏิสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับความเข้มข้นของน้ำตาลแมนนิทอล นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาการเกิดรากและลักษณะของราก พบว่า ทุก ทรีตเมนท์ให้การเกิดรากจำนวนมาก โดยเฉพาะบนอาหารสูตร ¼ MS และสีของรากบางส่วนมีสีเขียว (ภาพที่ 7) ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากความต้องการธาตุอาหารในการเจริญเติบโตของต้นพืช สำหรับน้ำหนักสดเฉลี่ยของกอ พบว่า อาหารสูตร ¼ MS ให้น้ำหนักสดเฉลี่ยน้อยที่สุด 0.93 กรัมต่อกอ ส่วนอาหารสูตรเต็ม MS ให้น้ำหนักสดเฉลี่ยสูงสุด 3.47 กรัมต่อกอ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง สำหรับความเข้มข้นของน้ำตาลแมนนิทอล พบว่า ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ให้น้ำหนักสดเฉลี่ยน้อยที่สุด 1.96 กรัมต่อกอ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ส่วนอาหารสูตร ¼ MS ที่เติมน้ำตาลแมนนิทอล ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ให้น้ำหนักสดเฉลี่ยน้อยที่สุด 0.90 กรัมต่อกอ (ตารางที่ 6, ภาพที่ 7) ซึ่งเห็นได้ว่าอาหารที่ลดความเข้มข้นของธาตุอาหารลงร่วมกับการเติมน้ำตาลแมนนิทอลที่สูงขึ้นนอกจากจะส่งผลให้ความสูงต้นลดลงมากที่สุดแล้วยังส่งผลต่อน้ำหนักสดของเปราะหอมลดลงด้วยเช่นกัน ทั้งนี้เนื่องจากน้ำตาลแมนนิทอลเป็นหนึ่งในน้ำตาลแอลกอฮอล์ช่วยสร้างสภาวะเครียดกับพืช ส่งผลให้ชิ้นส่วนพืชค่อย ๆ ดูดธาตุอาหารได้ทีละน้อย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Mohanty และคณะ (2014) รายงานว่า การอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิงจำนวน 9 ชนิดที่เก็บรวบรวมในบริเวณภาคตะวันออกของประเทศอินเดีย ได้แก่ *Z. rubens Z. zerumbet C. aromatica C. amada C. caesia K. galanga A. galanga H. coronarium และ G. marantina* เก็บรักษาโดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และที่ลดองค์ประกอบของสูตรอาหารลงครึ่งหนึ่งร่วมกับการเพิ่มหรือลดความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสและแมนนิทอล สามารถเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชโดยไม่มีการย้ายเลี้ยงได้นานถึง 8-12 เดือน และให้อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนอยู่ในช่วง 50-90 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Parida และคณะ (2018) ศึกษาการเก็บรักษาพืชวงศ์ขิง *Clobba marantina* โดยการลดความเข้มข้นของธาตุอาหารลงร่วมกับการเติมน้ำตาลแมนนิทอล 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษา *C. marantina* ได้ถึง 220 วัน และให้อัตราการรอดชีวิตถึง 70 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้มีรายงานการใช้น้ำตาลแมนนิทอลในการอนุรักษ์พันธุกรรมในหลอดทดลอง เช่น มันฝรั่ง (Gopal and Chauhan, 2010) และผลบัวหิมะ (Skalova *et al*., 2012)

จากการศึกษาข้างต้นจึงสรุปได้ว่า อาหารสูตรที่ไม่ลดองค์ประกอบของสูตรอาหาร (MS) และเติมน้ำตาลแมนนิทอลเพียงความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ มีความเหมาะสมในการชะลอการเจริญเติบโตสูงสุด โดยให้จำนวนยอดต่อกอสูง ความสูงยอดลดลงปานกลาง และน้ำหนักสดสูง

ตารางที่ 4 ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและน้ำตาลแมนนิทอลต่อจำนวนยอดของเปราะหอม หลังการวางเลี้ยงเป็นเวลา 9 เดือน

ความเข้มข้นของสูตรอาหาร	จำนวนยอดต่อกอ (ยอดต่อกอ)				ค่าเฉลี่ย (ความเข้มข้นสูตรอาหาร **)
	ความเข้มข้นของแมนนิทอล (เปอร์เซ็นต์)				
	0	1	2	3	
¼ MS	4.17±0.42de	6.42±0.29abc	5.38±0.19bcd	5.13±0.42cd	5.27±0.23B
½ MS	4.46±0.23de	6.33±0.29abc	6.96±0.54a	6.83±0.56ab	6.15±0.29AB
Full MS	3.38±0.19e	6.67±0.93ab	7.38±0.52a	7.46±0.63a	6.33±0.47A
ค่าเฉลี่ย (ความเข้มข้นแมนนิทอล**)	4.00±0.19C	6.47±0.34B	6.72±0.35A	6.47±0.38B	

ความเข้มข้นของ (แมนนิทอล x สูตรอาหาร)* C.V. (%) = 20.02

*,** แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ $p \leq 0.05$ และ $p \leq 0.01$ ตามลำดับ

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์และแถวเดียวกัน (อักษรตัวพิมพ์ใหญ่) และปฏิสัมพันธ์ระหว่างสองปัจจัย (อักษรตัวพิมพ์เล็ก) มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

ตารางที่ 5 ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและน้ำตาลแมนนิทอลต่อความสูงยอดของเปราะหอม หลังการวางเลี้ยงเป็นเวลา 9 เดือน

ความเข้มข้นของสูตรอาหาร	ความสูง (เซนติเมตร/กอ)				ค่าเฉลี่ย (ความเข้มข้นสูตรอาหาร**)
	ความเข้มข้นแมนนิทอล (เปอร์เซ็นต์)				
	0	1	2	3	
¼ MS	8.44±0.28c	6.54±0.28de	4.63±0.47fg	3.25±0.28g	5.71±0.44C
½ MS	10.17±0.29b	7.83±0.39cd	5.54±0.28ef	4.21±0.24fg	6.94±0.50B
Full MS	13.79±0.67a	10.04±0.14b	7.38±0.35cd	5.46±0.28ef	9.17±0.70A
ค่าเฉลี่ย (ความเข้มข้นแมนนิทอล**)	10.80±0.60A	8.14±0.40B	5.85±0.34B	4.30±0.30C	

ความเข้มข้นของ (แมนนิทอล x สูตรอาหาร) ** C.V. (%) = 11.93

** แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์และแถวเดียวกัน (อักษรตัวพิมพ์ใหญ่) และปฏิสัมพันธ์ระหว่างสองปัจจัย (อักษรตัวพิมพ์เล็ก) มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

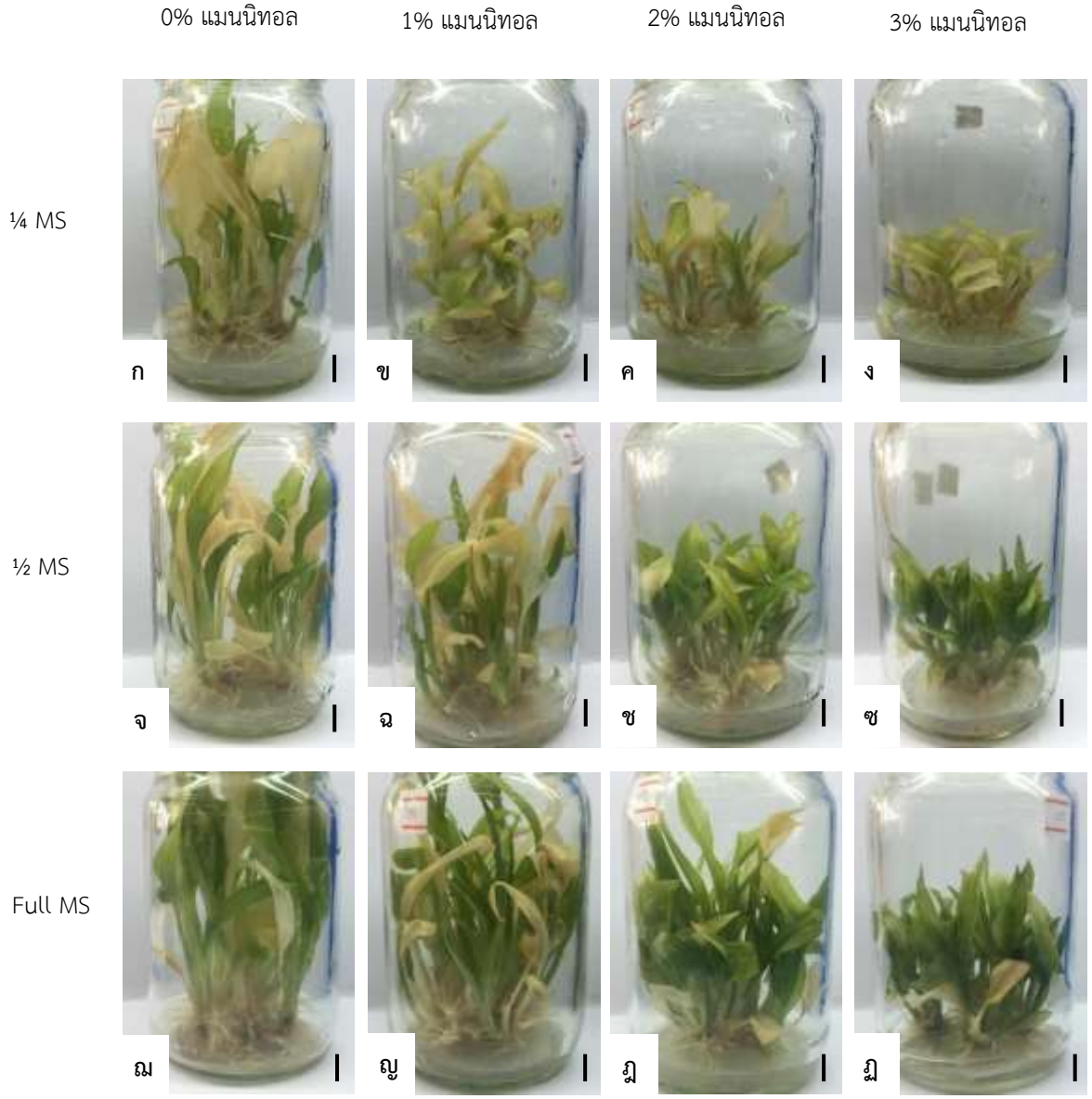
ตารางที่ 6 ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและน้ำตาลแมนนิทอลต่อน้ำหนักสดเฉลี่ยต่อกอของเปราะหอมหลังการวางเลี้ยงเป็นเวลา 9 เดือน

ความเข้มข้นของสูตรอาหาร	น้ำหนักสด (กรัม/กอ) ความเข้มข้นแมนนิทอล (เปอร์เซ็นต์)				ค่าเฉลี่ย (ความเข้มข้นสูตรอาหาร**)
	0	1	2	3	
¼ MS	1.18	0.90	0.72	0.92	0.93C
½ MS	1.93	2.23	2.05	2.07	2.07B
Full MS	3.73	3.64	3.61	2.90	3.47A
ค่าเฉลี่ย (ความเข้มข้นแมนนิทอล ^{ns})	2.28	2.26	2.13	1.96	

ความเข้มข้นของ (แมนนิทอล x สูตรอาหาร) ^{ns} C.V. (%) = 24.57

** แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$)

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

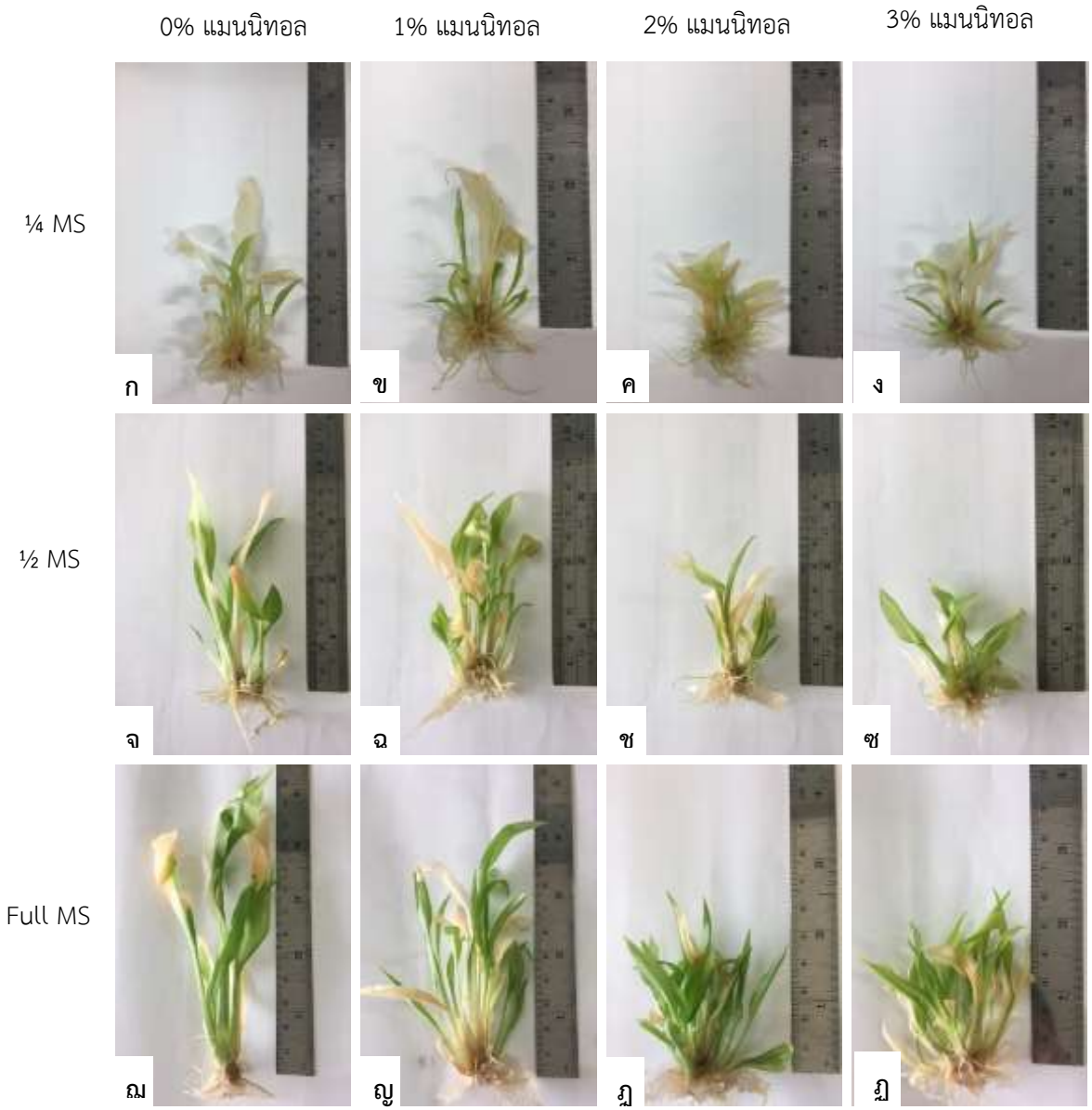


ภาพที่ 5 ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและน้ำตาลแมนนิทอลต่อจำนวนยอดของเปราะหอม หลังการวางเลี้ยงเป็นเวลา 9 เดือน (บาร์ = 1 เซนติเมตร)

(ก) ¼ MS (ข) ¼ MS + 1 % แมนนิทอล (ค) ¼ MS + 2 % แมนนิทอล (ง) ¼ MS + 3 % แมนนิทอล

(จ) ½ MS (ฉ) ½ MS + 1 % แมนนิทอล (ช) ½ MS + 2 % แมนนิทอล (ซ) ½ MS + 3 % แมนนิทอล

(ฌ) MS (ญ) MS + 1 % แมนนิทอล (ฎ) MS + 2 % แมนนิทอล (ฏ) MS + 3 % แมนนิทอล

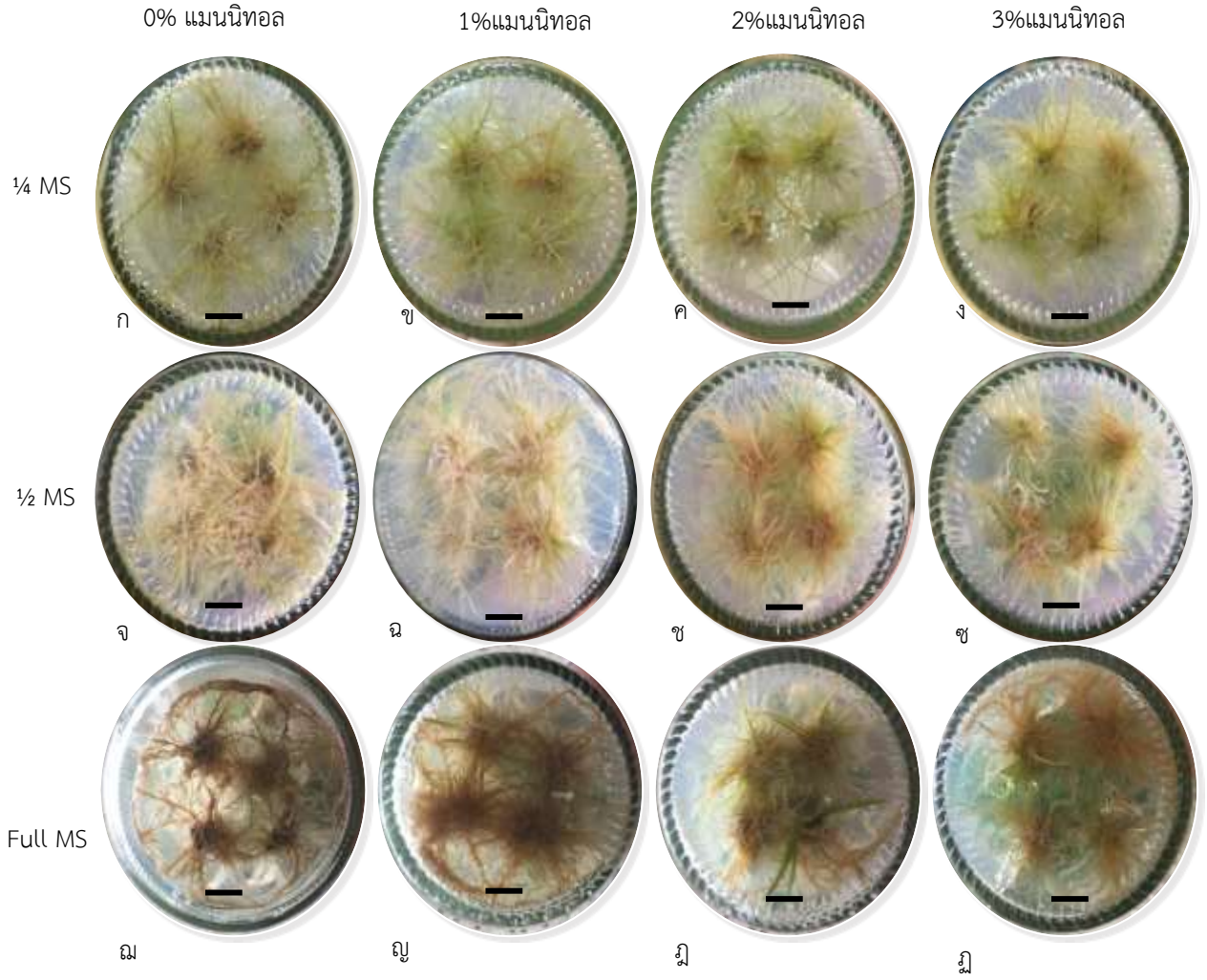


ภาพที่ 6 ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและน้ำตาลแมนนิทอลต่อความสูงของเปราะหอม หลังการวางเลี้ยงเป็นเวลา 9 เดือน

(ก) ¼ MS (ข) ¼ MS + 1 % แมนนิทอล (ค) ¼ MS + 2 % แมนนิทอล (ง) ¼ MS + 3 % แมนนิทอล

(จ) ½ MS (ฉ) ½ MS + 1 % แมนนิทอล (ช) ½ MS + 2 % แมนนิทอล (ซ) ½ MS + 3 % แมนนิทอล

(ฌ) MS (ญ) MS + 1 % แมนนิทอล (ฎ) MS + 2 % แมนนิทอล (ฏ) MS + 3 % แมนนิทอล



ภาพที่ 7 ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและน้ำตาลแมนนิทอลต่อลักษณะรากของเปราะหอมหลังการวางเลี้ยงเป็นเวลา 9 เดือน (บาร์ = 1 เซนติเมตร)

(ก) ¼ MS (ข) ¼ MS + 1 % แมนนิทอล (ค) ¼ MS + 2 % แมนนิทอล (ง) ¼ MS + 3 % แมนนิทอล
(จ) ½ MS (ฉ) ½ MS + 1 % แมนนิทอล (ช) ½ MS + 2 % แมนนิทอล (ซ) ½ MS + 3 % แมนนิทอล
(ฌ) MS (ญ) MS + 1 % แมนนิทอล (ฎ) MS + 2 % แมนนิทอล (ฏ) MS + 3 % แมนนิทอล

5. ผลของอุณหภูมิต่อการเก็บรักษาเมล็ดเทียมกระวานไทยในหลอดทดลอง

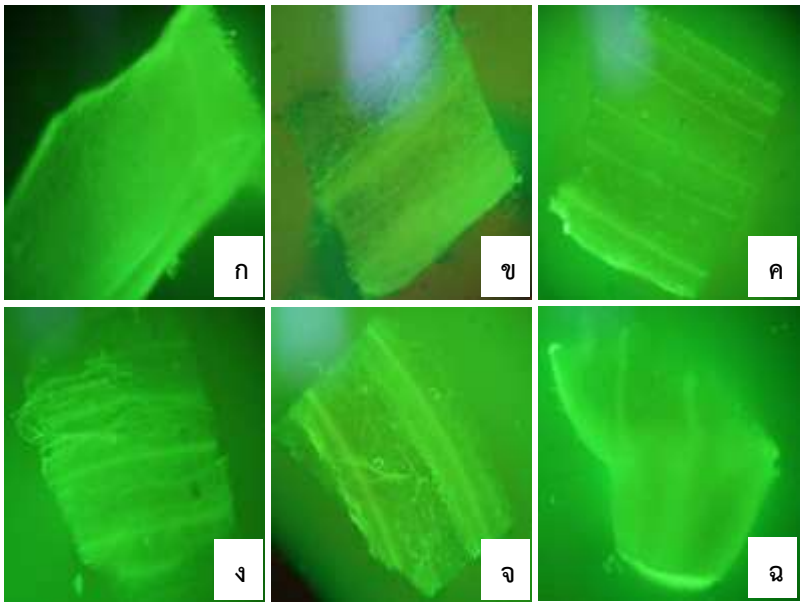
จากการตัดปลายยอดกระวานไทยขนาด 2-3 มิลลิเมตร ใส่ในอาหารเหลวสูตร MS เติมโซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นหยดปลายยอดกระวานไทยพร้อมสารละลายดังกล่าวลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที สามารถทำให้เกิดเมล็ดเทียมที่มีลักษณะกลมขนาดประมาณ 5 มิลลิเมตร (ภาพที่ 8) แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 4 -20 -30 และ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 และ 9 เดือน ซึ่งตรวจสอบการมีชีวิตของชิ้นส่วนยอดโดยการย้อมด้วยสี FDA ที่ระยะเวลาการเก็บ 6 เดือน พบว่า ชิ้นส่วนที่ห่อหุ้มด้วยโซเดียม อัลจิเนตแล้ววางเลี้ยงทันที (ชุดควบคุม) ติดสีเข้มทั่วทั้งชิ้นส่วน และมีการเรืองแสงอย่างเห็นได้ชัด แต่ชิ้นส่วนที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 4 -20 -30 และ -80 องศาเซลเซียส ให้การเรืองแสงเพียงบางส่วน (ตารางที่ 7, ภาพที่ 9) สำหรับเมล็ดเทียมที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 9 เดือน พบว่า ชิ้นส่วนไม่มีการติดสีเลย ทั้งนี้เป็นไปได้ว่า การเก็บรักษาชิ้นสวนปลายยอดของพืชวงศ์ขิง ด้วยวิธีการนี้อาจยังไม่เหมาะสม เนื่องจากชิ้นส่วนยอดขนาดข้างต้นมีขนาดใหญ่และมีน้ำเป็นองค์ประกอบสูง การเก็บในที่อุณหภูมิเย็นส่งผลต่ออาการสะท้านหนาวของชิ้นส่วน และการเกิดผลึกน้ำแข็งเมื่ออยู่ในอุณหภูมิเย็นที่ต่ำมาก ๆ

ภาพที่ 8 ลักษณะของเมล็ดเทียมกระวานไทยก่อนเก็บรักษาในอุณหภูมิและระยะเวลาแตกต่างกัน (บาร์ = 0.5 เซนติเมตร)

ตารางที่ 7 ผลของอุณหภูมิต่อการเก็บรักษาเมล็ดเทียมกระวานไทยในหลอดทดลองเป็นเวลา 6 เดือน

อุณหภูมิ	ระดับการเรืองแสง
วางเลี้ยงทันหลังห่อหุ้ม (ชุดควบคุม)	++++
25°C	+++
4°C	+++
-20°C	+++
-30°C	+++
-80°C	+++

* ++++ เรืองแสงทั่วทั้งชิ้น +++ เรืองแสงบางส่วน - ไม่เรืองแสง



ภาพที่ 9 ลักษณะการเรืองแสงของชิ้นส่วนกระวานไทยในหลอดทดลองหลังเก็บรักษาที่อุณหภูมิแตกต่างกันเป็นเวลา 6 เดือน
(ก) วางเลี้ยงทันหลังห่อหุ้ม (ข) 25°C (ค) 4°C (ง) -20°C (จ) -30°C (ฉ) -80°C

6. ผลของชนิดพืชวงศ์ขิงต่อการเก็บรักษาในหลอดทดลอง

จากการศึกษาการวางเลี้ยงพืชวงศ์ขิง (เปราะหอม กระวานไทย ขิงแดง และว่านนางคำ) บนอาหารสูตร MS ร่วมกับน้ำตาลแมนนิทอลความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า ขิงแดง เปราะหอม และว่านนางคำ มีอัตรารอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กระวานไทย มีอัตราการรอดชีวิต 75 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยพืชวงศ์ขิงทั้ง 4 ชนิด ให้อัตราการเกิดยอด 100 เปอร์เซ็นต์ สำหรับจำนวนยอด พบว่า กระวานไทยให้จำนวนยอดสูงสุด 5.63 ยอดต่อชิ้นส่วน รองลงมาคือ เปราะหอม ขิงแดง และว่านนางคำ ให้จำนวนยอด 2.42 2.10 และ 2.06 ยอดต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ สำหรับความยาวยอดพบว่า ว่านนางคำมีความยาวยอดสูงสุด 8.37 เซนติเมตร

รองลงมาคือ เปราะหอม ขิงแดง และกระวานไทย โดยให้ความยาวยอด 5.22 3.87 และ 1.99 เซนติเมตร ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง สำหรับการเกิดรากพบว่า พืชวงศ์ขิงทั้ง 4 ชนิด ให้อัตราการเกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์ โดยว่านนางคำให้จำนวนรากสูงสุด 12 รากต่อชิ้นส่วน และกระวานไทยให้จำนวนรากต่ำสุด 3.69 รากต่อชิ้นส่วน แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แต่ในส่วนของความยาวราก พบว่า กระวานไทยให้ความยาวรากสูงสุด 2.45 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับชนิดพืชอื่นๆ (ตารางที่ 8) ทั้งนี้เห็นได้ว่า ขิงแดง และว่านนางคำ ปลายใบเริ่มมีสีซีดและเหลือง ซึ่งแตกต่างจากกระวานไทยและเปราะหอมที่ใบยังมีสีเขียวในปริมาณมาก (ภาพที่ 10)

หลังจากวางเลี้ยงบนอาหารสูตรต่อเป็นเวลา 6 เดือน พบว่า ขิงแดง เปราะหอม และว่านนางคำมีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กระวานไทยให้อัตราการรอดชีวิตลงลง คือ 71.88 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการเกิดยอด พบว่า พืชวงศ์ขิงทั้ง 4 ชนิด ให้อัตราการเกิดยอด 100 เปอร์เซ็นต์ โดยกระวานไทยให้จำนวนยอดสูงสุด 7.18 ยอดต่อชิ้นส่วน รองลงมาคือ เปราะหอม ว่านนางคำ และขิงแดง ให้จำนวนยอด 4.50 4.28 และ 4.10 ยอดต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ ส่วนว่านนางคำให้ความยาวยอดสูงสุด 6.93 เซนติเมตร รองลงมา คือ เปราะหอม ขิงแดง และกระวานไทย ให้ความยาวยอด 4.92 3.10 และ 1.98 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 9) และลักษณะยอดของพืชวงศ์ขิงเกือบทุกชนิด เริ่มมีสีซีดเหลือง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ขิงแดงและว่านนางคำ (ภาพที่ 10) นอกจากนี้ พบว่า พืชวงศ์ขิงทุกชนิดให้อัตราการเกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์ โดยเปราะหอมและว่านนางคำ ให้รากเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 11)

ตารางที่ 8 ผลของชนิดพืชวงศ์ขิงต่อการเก็บรักษาในหลอดทดลอง หลังจากการวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลแมนนิทอล 2% เป็นเวลา 3 เดือน

ชนิดพืช	อัตราการรอดชีวิต (%)	การเกิดยอด (%)	จำนวนยอด (ยอดต่อกอ)	ความยาวยอด (cm)	การชักนำราก (%)	จำนวนราก (รากต่อกอ)	ความยาวราก (cm)
กระวานไทย	75±14.43	100±0.00	5.63±0.51a	1.99±0.15c	100±0.00	3.69±0.59c	2.45±0.51
ขิงแดง	100±0.00	100±0.00	2.10±0.22b	3.87±0.42bc	100±0.00	9.24±0.99ab	1.78±0.20
เปราะหอม	100±0.00	100±0.00	2.42±0.08b	5.22±0.13b	100±0.00	5.75±0.87bc	1.67±0.15
ว่านนางคำ	100±0.00	100±0.00	2.06±0.39b	8.37±0.88a	100±0.00	12.00±1.59a	1.70±0.19
F-test	ns	ns	*	**	ns	**	ns
C.V. (%)	21.02	2.82	46.50	29.07	2.82	30.27	36.62

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ, *,** แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ $p \le 0.05$ และ $p \le 0.01$ ตามลำดับ

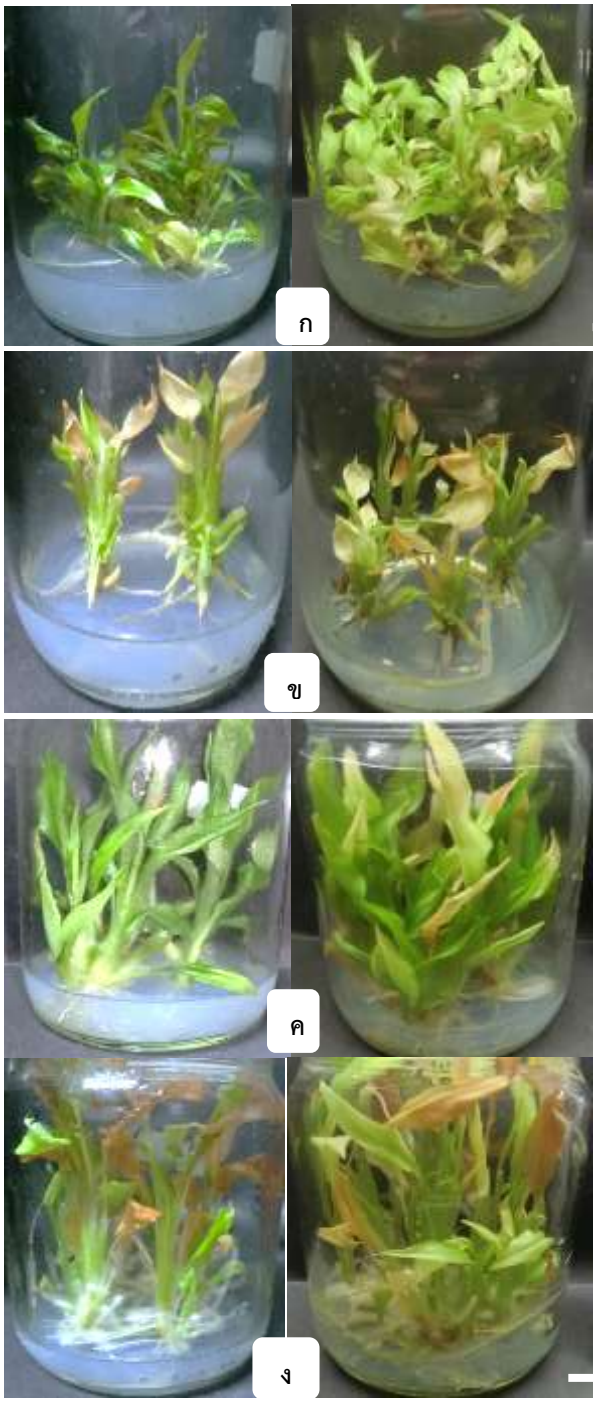
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์เดียวกัน มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

ตารางที่ 9 ผลของชนิดพืชวงศ์ขิงต่อการเก็บรักษาในหลอดทดลอง หลังจากการวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลแมนนิทอล 2% เป็นเวลา 6 เดือน

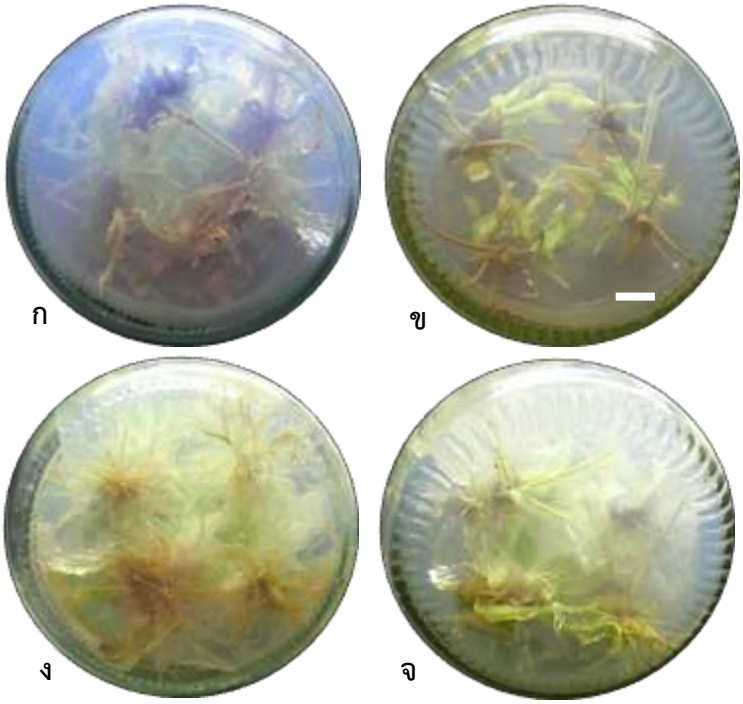
ชนิดพืช	อัตราการรอดชีวิต (%)	การเกิดยอด (%)	จำนวนยอด (ยอดต่อกอ)	ความยาวยอด (cm)	การชักนำราก (%)	จำนวนราก (รากต่อกอ)
กระวานไทย	71.88±16.47	100±0.00	7.18±1.74	1.98±0.13c	100±0.00	++++
ขิงแดง	100.00±0.00	100±0.00	4.10±0.16	3.10±0.35c	100±0.00	++++
เปราะหอม	100.00±0.00	100±0.00	4.50±0.25	4.92±0.24b	100±0.00	+++++
ว่านนางคำ	100.00±0.00	100±0.00	4.28±0.69	6.93±0.47a	100±0.00	+++++
F-test	ns	ns	ns	**	ns	
C.V. (%)	20.21	1.09	35.74	21.06	1.09	

++ (1-5 ราก) +++ (6-10 ราก) ++++ (> 10 ราก) +++++ (ไม่สามารถนับได้)

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ, ** แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ $p \le 0.01$



ภาพที่ 10 ลักษณะของพืชวงศ์ขิงหลังวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับน้ำตาลแมนนิทอล ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 (ซ้าย) และ 6 (ขวา) เดือน (บาร์ = 1 เซนติเมตร)
(ก) กระวานไทย (ข) ขิงแดง (ค) เปราะหอม (จ) ว่านนางคำ



ภาพที่ 11 ลักษณะรากของพืชวงศ์ขิง หลังวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลแมนนิทอล ความเข้มข้น 2 % เป็นเวลา 6 เดือน (บาร์ = 1 เซนติเมตร)
(ก) กระวานไทย (ข) ขิงแดง (ค) เปราะหอม (ง) ว่านนางคำ

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาวิธีการขยายพันธุ์และเก็บรักษาพันธุกรรมของพืชวงศ์ขิงในหลอดทดลอง โดยจากการเก็บรวบรวมพืชวงศ์ขิงจาก 4 จังหวัดในพื้นที่ภาคใต้ สามารถเก็บรวบรวมชนิดพืชได้ 14 ชนิด และเมื่อนำเข้าสู่ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีเพียง 5 ชนิด คือ ว่านชักมดลูกตัวเมีย ขมิ้นชัน ไพลเหลือง เปราะหอม และขมิ้นขาว ที่ปลอดเชื้อและสามารถการสร้างยอดใหม่ได้ จากการศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดและรากของพืชวงศ์ขิง 3 ชนิด คือ เปราะหอม ขมิ้นชัน และขมิ้นขาว ทั้ง 3 ชนิดพืช ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด (95-100 เปอร์เซ็นต์) และความยาวยอดเฉลี่ย (2.49-3.15 เซนติเมตร) แต่สำหรับจำนวนยอด พบว่าเปราะหอมให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 3.33 ยอดต่อชิ้นส่วน ในขณะที่ ขมิ้นขาวให้จำนวนรากสูงสุดถึง 7.38 รากต่อต้น สำหรับการเก็บรักษาพันธุ์กรรมพืชในหลอดทดลองโดยการชะลอการเจริญเติบโตของพืช พบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของเปราะหอมบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลแมนนิทอล 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 9 เดือน โดยไม่ทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ ให้การชะลอการเจริญเติบโตเหมาะสมที่สุด

เอกสารอ้างอิง

กมลทิพย์ ไหลไผ่ทอง, สมปอง เตชะโต และ ทัศนี ขาวเนียม. 2561. การพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของกระชายดำในหลอดทดลอง. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 5: 13-18.

ครรชิต ธรรมศิริ. 2541. เทคโนโลยีการผลิตกล้วยไม้. กรุงเทพฯ: อมรินทร์พริ้นติ้ง แอนด์พับลิชชิ่ง.

จรัสศรี นวลศรี. 2548. การปรับปรุงพันธุ์พืชสวน. สงขลา: ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

จินดา ศรศรีวิชัย. 2524. สรีรวิทยาพืชภาคการเจริญเติบโตและการควบคุม. เชียงใหม่: คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

มณฑา วงศ์มณีโรจน์. 2540. การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อ, ใน เอกสารประกอบการอบรมทางวิชาการ เรื่องเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชั้นสูง. หน้า 31-39. นครปฐม: ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกทดลอง สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Abdelmageed, A.H.A., Faridah, Z.Q., Norhana, A.M.F., Julia, A.A. and Kadir, A.M. 2011. Micropropagation of *Etlingera elatior* (Zingiberaceae) by using axillary bud explants. Journal of Medicinal Plants Research 51: 4465-4469.

Anchalee, J. 2012. Effects of NAA and sucrose on shoot induction and rapid micropropagation by trimming shoot of *Curcuma longa* L. Thammasat International Journal of Science and Technology 4: 54-60.

Bekheet, S.A., Taha, H.S., Saker, M.M. and Moursy, H.A. 2002. A synthetic seed system of date palm through somatic embryogenesis encapsulation. Annals Agricultural Science 47: 325-337.

Bekheet, S.A., Taha, H.S., El-Bahr, M.K. 2005. Preservation of date palm cultures using encapsulated somatic embryos. Arab Journal of Biotechnology 8: 319-328.

Gopal, J. and Chauhan, N.S. 2010. Slow growth *in vitro* conservation of potato germplasm at low temperature. Potato Research 53: 141–149.

Jitsopakul, N., Sangyojarn, P., Homchan, P. and Thammasiri, K. 2017. Micropropagation for conservation of Zingiberaceae in Surin province, Thailand. Acta Horticulturae. 1167: 75-80.

Larsen, K. 2002. The Zingiberaceae in flora of Thailand. In the 3rd Symposium on the Family Zingiberaceae. Khon Kaen, Thailand.

Mohanty, S., Parida, R., Sahoo, S. and Nayak, S. 2014. *In vitro* conservation of nine medicinally and economically important species of Zingiberaceae from Eastern India. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences 84: 799–803.

Parida, R., Mohanty, S. and Nayak, S. 2018. *In vitro* plant regeneration potential of genetically stable *Globba marantina* L., zingiberaceous species and its conservation. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences 88: 321–327.

Sharma, K.S., Sharma, M. and Raina, V. 2013. *In vitro* protocol standardization for turmeric in Jammu division. Journal of Biotechnology Research Center 8: 55-57.

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

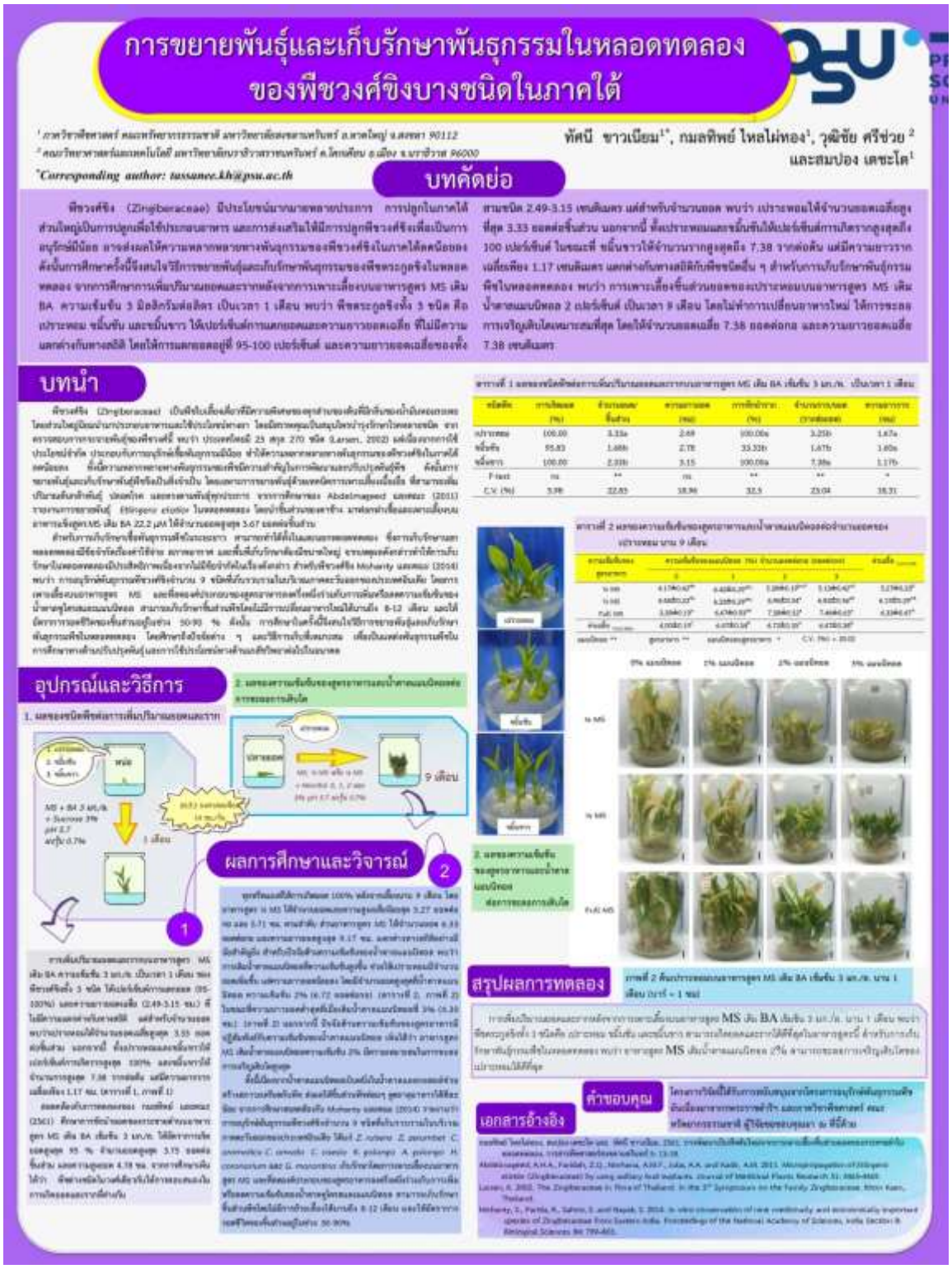
Skalova, I., Viehmannova, I. and Vitamvas, J. 2012. *In vitro* Conservation of *Smallanthus sonchifolius* under slow-growth conditions. Agricultura Tropica Et Subtropica 45: 147-150.

Withers, L.A. 1991. *In-vitro* conservation. Biological Journal of the Linnean Society 43: 31–42.

Villalobos, V.M., Ferreira, P.M. and Mora, A. 1991. The use of biotechnology in the conservation of tropical germplasm. Biotechnology Advances 9: 197-215.

ภาคผนวก

- **บทความวิจัยที่นำเสนอที่ประชุมวิชาการ (Proceeding)**



การขยายพันธุ์และเก็บรักษาพันธุกรรมในหลอดทดลองของพืชวงศ์ขิงบางชนิดในภาคใต้

[1] ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112
[2] คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา อ.เมือง จ.ยะลา 95000
*Corresponding author: tussanee.kh@psu.ac.th

ทัศนี ขาวเนียม[1*], กมลทิพย์ ไหลไม่หอง[1], วุฒิชัย ศรีช่วย [2] และสมปอง เตชะโต[1]

บทคัดย่อ

พืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) มีประโยชน์มากมายหลายประการ การปลูกในภาคใต้ส่วนใหญ่เป็นการปลูกเพื่อใช้ประกอบอาหาร และการส่งเสริมให้มีการปลูกพืชวงศ์ขิงเพื่อเป็นการอนุรักษ์มีน้อย อาจส่งผลให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชวงศ์ขิงในภาคใต้ลดน้อยลง ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงสนใจวิธีการขยายพันธุ์และเก็บรักษาพันธุกรรมของพืชจะถูกขิงในหลอดทดลอง จากการศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดและจากยอดข้างจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า พืชจะถูกชิงทั้ง 3 ชนิด คือ เปราะหอม ขมิ้นชัน และขมิ้นขาว ให้เปอร์เซ็นต์การแตกยอดและความยาวยอดเฉลี่ย ที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยให้การแตกยอดสูงสุดที่ 95-100 เปอร์เซ็นต์ และความยาวยอดเฉลี่ยของทั้งสามชนิด 2.49-3.15 เซนติเมตร แต่สำหรับจำนวนยอด พบว่า เปราะหอมให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 3.33 ยอดต่อชิ้นส่วน นอกจากนี้ ทั้งเปราะหอมและขมิ้นชันให้เปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงสุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ ขมิ้นขาวให้จำนวนรากสูงสุดถึง 7.38 รากต่อต้น แต่มีความยาวรากเฉลี่ยเพียง 1.17 เซนติเมตร แตกต่างกันทางสถิติกับพืชชนิดอื่น ๆ สำหรับการเก็บรักษาพันธุ์กรรมพืชในหลอดทดลอง พบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของเปราะหอมบนอาหารสูตร MS เติม น้ำตาลแบบนิพอล 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 9 เดือน โดยไม่ทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ ให้การชะลอการเจริญเติบโตเหมาะสมที่สุด โดยให้จำนวนยอดเฉลี่ย 7.38 ยอดต่อกอ และความยาวยอดเฉลี่ย 7.38 เซนติเมตร

บทนำ

พืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีความหลากหลายสูงส่วนของต้นที่มีลำต้นอยู่ใต้ดินหรือเหนือดินโดยส่วนใหญ่มีเหง้าสะสมอาหาร และใช้ประโยชน์ทางด้านอาหาร โดยมีการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเหง้าสดของพืช ขาดความหลากหลายของพันธุ์พืชวงศ์ขิง หน่วย ประเทศไทยมี 25 สกุล 270 ชนิด (Larsen, 2002) แต่เนื่องจากมีผู้ประโยชน์ต่ำต้น ประกอบกับการอนุรักษ์พันธุกรรมมีน้อย จำให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชวงศ์ขิงในภาคใต้ลดน้อยลง ซึ่งมีความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชวงศ์ขิงในภาคใต้ลดน้อยลง ดังนั้นการขยายพันธุ์และเก็บรักษาพันธุ์พืชวงศ์ขิงเป็นสิ่งจำเป็น โดยเฉพาะการขยายพันธุ์ด้วยพืชวงศ์ขิงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่สามารถผลิตปริมาณต้นกล้าพันธุ์ ปลอดโรค และขยายสายพันธุ์ทุกประการ จากการศึกษาของ Abdalmageed and Abbas (2011) รายงานการขยายพันธุ์ *Elettaria cardamomum* ในหลอดทดลอง โดยนำชิ้นส่วนของยอดข้าง มาฟอกฆ่าเชื้อและเพาะเลี้ยงบนอาหารเข้มสูตร MS เติม BA 22.2 µM ให้จำนวนยอดสูงสุด 5.67 ยอดต่อชิ้นส่วน

สำหรับการเก็บรักษาพันธุ์พืชในระยะยาว สามารถทำได้ทั้งในสภาพแวดล้อมของต้นเองและนอกสภาพแวดล้อม ซึ่งการเก็บรักษาในสภาพแวดล้อมมีข้อจำกัดเรื่องพื้นที่ในการดูแล และพื้นที่ปลูกที่มีขนาดใหญ่ จะบอกสภาพแวดล้อมต่างๆ ทำให้การเก็บรักษาในหลอดทดลองมีประสิทธิภาพมากกว่าในเรื่องดังกล่าว สำหรับพืชวงศ์ขิง Mohanty and Mishra (2004) พบว่า การอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิงจำนวน 9 ชนิดขึ้นกับความเหมาะสมของอาหารและวิธีการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และพืชของต้นประกอบของสูตรอาหารลดครึ่งหนึ่งร่วมกับการเติมน้ำตาลซูโครสและแมนนิทอล สามารถเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชโดยไม่มีการเปลี่ยนอาหารใหม่ได้นานถึง 8-12 เดือน และให้อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนสูงถึงร้อย 50-90 % ดังนั้น การศึกษาในครั้งนี้จึงสนใจวิธีการขยายพันธุ์และเก็บรักษาพันธุกรรมพืชในหลอดทดลอง โดยศึกษาถึงปัจจัยต่าง ๆ และวิธีการเก็บรักษาแบบ เพื่อเป็นแหล่งพันธุกรรมพืชในการศึกษาทางด้านปรับปรุงพันธุ์และการใช้ประโยชน์ทางด้านเศรษฐกิจในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

1. ผลของชนิดพืชต่อการเพิ่มปริมาณยอดและราก

การเพิ่มปริมาณยอดและการเกิดยอดจากอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มก./ล. เป็นเวลา 1 เดือน ของพืชวงศ์ขิงทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ขิงขิงสำการแตกยอด (95-100%) และความยาวยอดเฉลี่ย (2.49-3.15 ซม.) ที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่สำหรับจำนวนยอดพบว่าเปราะหอมให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.33 ยอดต่อชิ้นส่วน นอกจากนี้ ทั้งเปราะหอมและขมิ้นชันให้เปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงสุด 100% และขมิ้นขาวให้จำนวนรากสูงสุด 7.38 รากต่อต้น แต่มีความยาวรากเฉลี่ยเพียง 1.17 ซม. (ตารางที่ 1, ภาพที่ 1)

ยอดที่ได้จากการแตกยอดของ กมลทิพย์ และคณะ (2561) ศึกษาการชักนำยอดของเปราะหอมจากอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 3 มก./ล. ให้อัตราการเกิดยอดสูงสุด 95 % จำนวนยอดสูงสุด 3.75 ยอดต่อชิ้นส่วน และความสูงยอด 4.78 ซม. จากการศึกษานี้ให้จำนวนยอดต่ำกว่าที่กล่าวมาข้างต้น อาจเนื่องมาจากพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองและการเตรียมชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 1 ผลของชนิดพืชต่อการเพิ่มปริมาณยอดและรากบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 3 มก./ล. เป็นเวลา 1 เดือน

ชนิดพืช	การเกิดยอด (%)	จำนวนยอด/ชิ้นส่วน	ความยาวยอด (ซม)	การเกิดราก (%)	จำนวนราก/ยอด (ราก/ยอด)	ความยาวราก (ซม)
เปราะหอม	100.00	3.33a	2.49	100.00a	3.25b	1.67a
ขมิ้นชัน	95.83	1.68b	2.78	33.33b	1.67b	1.60a
ขมิ้นขาว	100.00	2.33b	3.15	100.00a	7.38a	1.17b
F-test	ns	**	ns	**	**	*
C.V. (%)	5.98	22.85	18.96	32.5	23.04	38.31

ตารางที่ 2 ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและน้ำตาลแบบนิพอลต่อจำนวนยอดของเปราะหอม นาน 9 เดือน

ความเข้มข้นของสูตรอาหาร	ความเข้มข้นของแมนนิพอล (%)				ค่าเฉลี่ย
	0	1	2	3	
½ MS	4.17ab1.67**	6.42bc2.20**	7.28bc1.19**	5.19b1.42**	5.27ab1.23*
1/1 MS	6.42bc2.22**	6.22bc1.39**	6.94bc2.34*	6.42bc1.96**	6.25bc1.28**
Full MS	3.39ab1.13*	6.47bc1.83**	7.39bc1.13*	7.44bc1.03*	6.33bc1.41*
ค่าเฉลี่ย (ความเข้มข้นของแมนนิพอล)	4.99ab1.15*	6.37bc1.24*	7.20bc1.20*	6.35bc1.26*	

ผลของแมนนิพอล ** สูตรอาหาร ** ผลของแมนนิพอล*สูตรอาหาร * C.V. (%) = 20.02

2. ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและน้ำตาลแมนนิพอลต่อการชะลอการเติบโต

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ยอดที่ผ่านการเพิ่มปริมาณยอดนาน 9 เดือน โดยอาหารสูตร ½ MS ให้จำนวนยอดและความสูงเฉลี่ยน้อยสุด 3.27 ยอดต่อชิ้น และ 3.71 ซม. ตามลำดับ ส่วนอาหารสูตร MS ให้จำนวนยอด 6.33 ยอดต่อชิ้น และความสูงของสูตร 3.17 ซม. และค่าของการเกิดยอดมีค่าสูงที่สุด สำหรับปัจจัยด้านความเข้มข้นของน้ำตาลแมนนิพอล พบว่า การเติมน้ำตาลแมนนิพอลที่ความเข้มข้นสูงขึ้น ช่วยให้จำนวนยอดมีจำนวนยอดเพิ่มขึ้น แต่ความสูงของยอดน้อยลง โดยมีจำนวนยอดสูงสุดที่ความเข้มข้น 2% (6.72 ยอดต่อยอด) (ตารางที่ 2, ภาพที่ 2) ในขณะที่ความสูงของยอดต่ำสุดที่มีการเติมน้ำตาลแมนนิพอลที่ 3% (3.36 ซม.) (ตารางที่ 2) นอกจากนี้ ยังจัดสังเกตความเข้มข้นของสูตรอาหารที่ผู้วิจัยพัฒนาความเข้มข้นของน้ำตาลแมนนิพอล เช่นได้ว่า อาหารสูตร MS เติมน้ำตาลแมนนิพอลความเข้มข้น 2% มีความเหมาะสมในการชะลอการเจริญเติบโตสูงสุด

ดังนี้เมื่อการนำน้ำตาลแมนนิพอลเป็นสารโมเลกุลในน้ำตาลแทนน้ำตาลซูโครสในอาหารเพาะเลี้ยงพืช ส่งผลให้ชิ้นส่วนพืชมีการเจริญเติบโตช้าลง สอดคล้องกับรายงานของ Mohanty and Mishra (2004) รายงานว่า การเลี้ยงข้าวสายพันธุ์กรรมพืชวงศ์ขิงจำนวน 9 ชนิดขึ้นกับความเหมาะสมของอาหารและวิธีการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และพืชของต้นประกอบของสูตรอาหารลดครึ่งหนึ่งร่วมกับการเติมน้ำตาลซูโครสและแมนนิพอล สามารถเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชโดยไม่มีการเปลี่ยนอาหารใหม่ได้นานถึง 8-12 เดือน และให้อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนสูงถึงร้อย 50-90%

สรุปผลการทดลอง

ภาพที่ 2 พืชประกอบยอดนาน 9 เดือน บนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 3 มก./ล. นาน 1 เดือน (ขวา) + 1 ซม.

การเพิ่มปริมาณยอดและการชักนำยอดจากอาหารเพื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 3 มก./ล. นาน 1 เดือน พบว่า พืชทุกชนิดทั้ง 3 ชนิดคือ เปราะหอม ขมิ้นชัน และขมิ้นขาว สามารถให้ยอดและรากได้ดีที่สุดในอาหารสูตรนี้ สำหรับการเก็บรักษาพันธุ์กรรมพืชในหลอดทดลอง พบว่า อาหารสูตร MS เติมน้ำตาลแมนนิพอล 2% เหมาะสมที่สุด สามารถชะลอการเจริญเติบโตของยอดได้ดีที่สุด

คำขอบคุณ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ และภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ ผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

กมลทิพย์ ไหลไม่หอง, สมปอง เตชะโต และ ทัศนี ขาวเนียม. 2561. การพัฒนาเป็นพืชต้นไม้ของการขยายพันธุ์ขิงบางชนิดในหลอดทดลอง. การประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 13. 13-19.

Abdalmageed, A.H.A., Faridah, Z.Q., Norhana, A.M.F., Julia, A.A. and Kadir, A.M. 2011. Micropropagation of *Elettaria cardamomum* (Zingiberaceae) by using axillary bud explants. Journal of Medicinal Plants Research. 5(1): 8665-8669.

Larsen, K. 2002. The Zingiberaceae in Flora of Thailand. In the 3rd Symposium on the Family Zingiberaceae. Khon Kaen, Thailand.

Mohanty, S., Panda, R., Sahoo, S. and Nayak, S. 2004. In vitro conservation of rare endemically and economically important species of Zingiberaceae from Eastern India. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences 84: 799-803.

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ
สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.)

เอกสารประชุมวิชาการ ภาคบรรยาย ภาคโปสเตอร์

ทรัพยากรไทย : ชาวบ้านไทยได้ประโยชน์

- **การบริการวิชาการ**

1) จัดนิทรรศการสมุนไพรและให้ความรู้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร โดยเน้นพืชวงศ์ขิง -ข่า และแจกต้นกล้าพันธุ์เปราะหอมที่ได้จากงานวิจัย ในงานเกษตรภาคใต้ครั้งที่ 25 คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ระหว่างวันที่ 11-20 สิงหาคม 2560

แผ่นพับ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร

การจัดนิทรรศการ และต้นกล้าพันธุ์เปราะหอมจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

บรรยากาศในงานและการแจกจ่ายต้นกล้าพันธุ์สมุนไพรเปราะหอม

2) ร่วมส่งผลงานแผ่นพับและต้นกล้าพันธุ์เปราะหอมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อจัดนิทรรศการกับหน่วยงานวิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร จังหวัดยะลา ในงานมหกรรมสมุนไพรไทยแห่งชาติ ครั้งที่ 14 ในหัวข้อ “เสน่ห์ไทย สมุนไพรไทย ยุค 4.0” ระหว่างวันที่ 30 สิงหาคม-3 กันยายน 2560 ณ ฮอลล์ 6-8 อิมแพ็ค เมืองทองธานี

การจัดนิทรรศการการขยายพันธุ์สมุนไพรด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในงานมหกรรมสมุนไพร

การขยายพันธุ์และเก็บรักษาพันธุกรรมในหลอดทดลองของพืชวงศ์ขิงบางชนิดในภาคใต้
MICROPROPAGATION AND *IN VITRO* CONSERVATION OF SOME ZINGIBERACEAE FROM SOUTHERN THAILAND

ทัศนี ขาวเนียม[1*], กมลทิพย์ ไหลไผ่ทอง[1], วุฒิชัย ศรีช่วย[2] และ สมปอง เตชะโต[1]
Tassanee Khawniam[1*], Kamoltip Laipaitong[1], Wuttichai Srichuay[2] and Sompong Te-chato[1]

[1]*ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112*
[2]*คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ ต.โคกเคียน อ.เมือง จ.นราธิวาส 96000*
[1]*Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hatyai District, Songkhla Province, 90112*
[2]*Faculty of Science and Technology, Princess of Naradhiwas University, Muang, Narathiwat 96000*

บทคัดย่อ

พืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) มีประโยชน์มากมายหลายประการ การปลูกในภาคใต้ส่วนใหญ่เป็นการปลูกเพื่อใช้ประกอบอาหาร และการส่งเสริมให้มีการปลูกพืชวงศ์ขิงเพื่อเป็นการอนุรักษ์มีน้อย อาจส่งผลให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชวงศ์ขิงในภาคใต้ลดน้อยลง ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงสนใจวิธีการขยายพันธุ์และเก็บรักษาพันธุกรรมของพืชตระกูลขิงในหลอดทดลอง จากการศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดและรากหลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า พืชตระกูลขิงทั้ง 3 ชนิด คือ เปราะหอม ขมิ้นชัน และขมิ้นขาว ให้เปอร์เซ็นต์การแตกยอดและความยาวยอดเฉลี่ย ที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยให้การแตกยอดอยู่ที่ 95-100 เปอร์เซ็นต์ และความยาวยอดเฉลี่ยของทั้งสามชนิด 2.49-3.15 เซนติเมตร แต่สำหรับจำนวนยอด พบว่า เปราะหอมให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 3.33 ยอดต่อชิ้นส่วน นอกจากนี้ ทั้งเปราะหอมและขมิ้นชันให้เปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงสุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ ขมิ้นขาวให้จำนวนรากสูงสุดถึง 7.38 รากต่อต้น แต่มีความยาวรากเฉลี่ยเพียง 1.17 เซนติเมตร แตกต่างกันทางสถิติกับพืชชนิดอื่น ๆ สำหรับการเก็บรักษาพันธุ์กรรมพืชในหลอดทดลอง พบว่า การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของเปราะหอมบนอาหารสูตร MS เติมน้ำตาลแมนนิทอล 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 9 เดือน โดยไม่ทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ ให้การชะลอการเจริญเติบโตเหมาะสมที่สุด โดยให้จำนวนยอดเฉลี่ย 7.38 ยอดต่อกอ และความยาวยอดเฉลี่ย 7.38 เซนติเมตร

Abstract

Zingiberaceae has many benefits. The cultivation of the Southern region is used for mainly cooking, but encouraging the cultivation of Zingiberaceae in order to be less conservation. This reason decreased in genetic diversity of some Zingiberaceae in Southern region. So, the objectives of this study were to develop method of propagation and *in vitro* conservation. For shoot and root induction on MS medium supplemented with 3 mg/L BA after 1 month of culture, the result showed that 3 species (*Kaempferia galanga* L., *Curcuma longa* L. and *Curcuma mangga* Valeton & Zijp) of Zingiberaceae gave the best results in shoots induction at 95-100 % and shoot length of all three species range at 2.49-3.15 cm. But the highest shoot induction found that *K. galanga* gave the highest number of shoot at 3.33 shoots/explant. In addition, *K. galanga* and *C. mangga* gave the highest percentage of root induction (100). While *C. mangga* gave the highest number of roots at 7.38 roots/explant and root length at 1.17 cm. For *in vitro* conservation of *K. galanga*, the result found that shoots cultured on MS medium supplemented with 2% mannitol for 9 months without subculture gave the suitable result in slow growth on shoot induction at 7.38 shoots/clump and shoot length at 7.38 cm.

คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช, การเก็บรักษาพันธุกรรม, พืชวงศ์ขิง
Keywords: plant tissue culture, slow growth condition, family Zingiberaceae

*ติดต่อนักวิจัย: ทัศนี ขาวเนียม (อีเมล์ tassanee.kh@psu.ac.th)
*Corresponding author: Tassanee Khawniam (E-mail: tassanee.kh@psu.ac.th)

บทนำ

พืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีการใช้ประโยชน์มาช้านาน เนื่องจากความพิเศษของทุกส่วนของต้นที่มีกลิ่นของน้ำมันหอมระเหย โดยนำมาประกอบอาหาร เช่น ขิง (*Zingiber officinale*) ข่า (*Alpinia galanga*) กระวาน(*Amomum testaceum*) เปราะหอม (*Kaempferia galanga* Linn.) มีสรรพคุณเป็นสมุนไพรบำรุงรักษาโรค เช่น ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) ว่านชักมดลูก (*Curcuma zanthorhiza*) ขมิ้นขาว *(Curcuma mangga* Valeton & Zijp) มหาหงส์ (*Hedychium coronarium* Koen.) และนำมาใช้เป็นไม้ดอกและไม้ประดับ เช่น ดาหลา [*Etlingera littoralis* (Koenig) Giseke] ปทุมมา (*Curcuma alismati-folia* Gagnap.) และกระเจียว (*Curcuma parviflora* Wall.) เป็นต้น โดยผลิตออกสู่ตลาดเพื่อเป็นสินค้าใช้ภายในและส่งออกนอกประเทศได้ จากตรวจสอบการกระจายพันธุ์ของพืชวงศ์นี้ พบว่า ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีความหลากหลายของชนิดสูงมาก โดยมีประมาณ 25 สกุล 270 ชนิด (Larsen, 2002) สามารถพบได้บริเวณกว้างตั้งแต่ความสูงระดับต่ำสุดจนถึงระดับสูง 2,000 เมตร จากระดับน้ำทะเล แต่เนื่องจากหลักฐานการใช้ประโยชน์จำกัดอยู่ในบางชนิดที่ใช้ในชีวิตประจำวัน และการปลูกในภาคใต้ส่วนใหญ่เป็นการปลูกเพื่อใช้ประกอบอาหาร เช่น ข่า ขมิ้นเหลือง ขมิ้นแกง เป็นต้น ประกอบกับการส่งเสริมให้มีการปลูกเพื่อเป็นการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมมีน้อย อาจส่งผลให้ความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชวงศ์ขิงในภาคใต้ลดน้อยลง ทั้งนี้ความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชเป็นสิ่งสำคัญในการพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์พืช เนื่องจากในปัจจุบันนี้โลกมีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว ทำให้สิ่งแวดล้อมถูกทำลายมากขึ้น ส่งผลให้พืชวงศ์นี้ทั้งที่ใช้ประโยชน์และยังไม่มีการประโยชน์ อาจเกิดการละเลยและสูญหายได้ ดังนั้นการตระหนักถึงความสำคัญของการขยายพันธุ์และเก็บรักษาพันธุ์พืชจึงเป็นสิ่งจำเป็น การขยายพันธุ์พืชวงศ์ขิงส่วนใหญ่นิยมขยายพันธุ์โดยใช้ส่วนของลำต้นใต้ดินที่เรียกว่า rhizome นอกจากนี้มีรายงานการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเป็นการเพิ่มปริมาณต้นกล้าพันธุ์และการผลิตต้นพันธุ์ปลอดโรค โดย Abdelmageed และคณะ (2011) ศึกษา การขยายพันธุ์ *Etlingera elatior* ในหลอดทดลอง โดยนำชิ้นส่วนของตาข้าง มาฟอกฆ่าเชื้อและเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Murashige and Skoog (MS) เติม BA ความเข้มข้น 22.2 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนยอดสูงสุด 3.67 ยอดต่อชิ้นส่วน และการเติม IAA ความเข้มข้น 11.4 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนราก 3 รากต่อต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานผลสำเร็จจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของหน่องอกของขมิ้นชันโดยนักวิจัยอื่นๆ อีกหลายท่าน ส่วนใหญ่เป็นการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับ BA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ (Anchalee, 2012; Sharma *et. al*., 2013) สำหรับการเก็บรักษาพันธุ์พืชนั้นมีด้วยกัน 2 วิธี คือ *in situ* และ *ex situ* ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับธรรมชาติของพืชนั้นๆ (จรัสศรี, 2548) การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมพืชในระยะยาว (long term storage) สามารถทำได้ทั้งในและนอกหลอดทดลอง ซึ่งการเก็บรักษาในสภาพนอกหลอดทดลองมีข้อจำกัดในเรื่องค่าใช้จ่ายในการดูแลรักษา การเปลี่ยนแปลงของสภาพอากาศ และพื้นที่เก็บรักษาต้องมีขนาดใหญ่ จากเหตุผลดังกล่าวทำให้การเก็บรักษาในหลอดทดลองจึงเป็นวิธีการเก็บที่มีประสิทธิภาพอีกหนึ่งวิธี เนื่องจากไม่มีข้อจำกัดในเรื่องดังกล่าว สามารถใช้ชิ้นส่วนพืชหลากหลายชนิด ได้แก่ หน่องอก (sprout rhizome) แคลลัส เอ็มบริโอเจนิคแคลลัส โซมาติก- เอ็มบริโอ เซลล์ซัสเพนชัน และเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดหรือปลายราก เป็นต้น Bekheet และคณะ (2002) ศึกษาการเก็บรักษาปลายยอดในหลอดทดลองของอินทผลัมในอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ในสภาพมืด ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชได้นาน 12 เดือน ให้อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนสูง 70 เปอร์เซ็นต์ และการเจริญเติบโตของยอดที่ดี 50 เปอร์เซ็นต์ สำหรับพืชวงศ์ขิง Mohanty และคณะ (2014) รายงานว่า การอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิงจำนวน 9 ชนิดที่เก็บรวบรวมในบริเวณภาคตะวันออกของประเทศอินเดีย ได้แก่ *Z. rubens Z. zerumbet C. aromatica C. amada C. caesia K. galanga A. galanga H. coronarium* และ *G. marantina* เก็บรักษาโดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และที่ลดองค์ประกอบของสูตรอาหารลงครึ่งหนึ่ง ร่วมกับการเพิ่มหรือลดความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสและแมนนิทอล สามารถเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชโดยไม่มีการเปลี่ยนอาหารใหม่ได้นานถึง 8-12 เดือน และให้อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนอยู่ในช่วง 50-90 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงสนใจวิธีการขยายพันธุ์และเก็บรักษาพันธุกรรมพืชในหลอดทดลอง โดยศึกษาถึงปัจจัยต่างๆ และวิธีการเก็บที่เหมาะสม เพื่อเป็นแหล่งพันธุกรรมพืชในการศึกษาทางด้านปรับปรุงพันธุ์ และการใช้ประโยชน์ทางด้านเภสัชวิทยาต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. ผลของชนิดพืชต่อการเพิ่มปริมาณยอดและรากในหลอดทดลอง

นำหน่ออ่อน ขมิ้นชัน ขมิ้นขาว และเปราะหอม มาผ่านกระบวนการฟอกฆ่าเชื้อ โดยการล้างด้วยทีโพลแล้วตามด้วยน้ำประปาไหลผ่านเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นจุ่มในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที แช่ในสารละลายคลอร็อกซ์เข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ Tween 20 เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ภายในตู้ปลอดเชื้อ จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอร็อกซ์เข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ภายในตู้ปลอดเชื้อ แล้วนำชิ้นส่วนหน่อมาตัดแต่งให้มีขนาด 0.5 ตารางเซนติเมตร ก่อนเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ ปรับความเป็นกรดด่าง 5.7 และผงวุ้น 0.7 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน นำยอดที่ได้จากสูตรอาหารย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิม เป็นเวลาอีก 1 เดือน แล้วบันทึกอัตราการเกิดยอด จำนวนยอด ความยาวยอด อัตราการเกิดราก จำนวนราก และความยาวราก วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD)

2. ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและน้ำตาลแมนนิทอลต่อการชะลอการเติบโตของเปราะหอม

ตัดปลายยอดเปราะหอมขนาด 0.5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS หรือ MS ที่ลดองค์ประกอบของธาตุอาหารลงหนึ่งในสอง (1/2) และหนึ่งในสี่ (1/4) ร่วมกับการเติมน้ำตาลแมนนิทอลความเข้มข้น 0 1 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ เติมน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ ปรับความเป็นกรดด่าง 5.7 และผงวุ้น 0.7 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 9 เดือน บันทึกอัตราการสร้างยอด จำนวนยอด และความยาวยอด วางแผนการทดลองแบบ 4*3 แฟคทอเรียลใน CRD มี 2 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส และ ความเข้มข้นของสูตรอาหาร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลของชนิดพืชต่อการเพิ่มปริมาณยอดและรากในหลอดทดลอง

จากการศึกษา พบว่า การเพิ่มปริมาณยอดและรากบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน พืชวงศ์ขิงทั้ง 3 ชนิดคือ เปราะหอม ขมิ้นชัน และขมิ้นขาว ให้เปอร์เซ็นต์การแตกยอดและความยาวยอดเฉลี่ย ที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยให้การแตกยอดอยู่ที่ 95-100 เปอร์เซ็นต์ และความยาวยอดเฉลี่ยของทั้งสามชนิด 2.49-3.15 เซนติเมตร แต่สำหรับจำนวนยอด พบว่า เปราะหอมให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 3.33 ยอดต่อชิ้นส่วน รองลงมาคือ ขมิ้นขาวให้จำนวนยอด 2.33 ยอดต่อชิ้นส่วน และขมิ้นชันให้จำนวนยอด 1.68 ยอดต่อชิ้นส่วน นอกจากนี้ ทั้งเปราะหอมและขมิ้นขาวให้เปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงสุดถึง 100 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ขมิ้นขาวให้จำนวนรากสูงสุดถึง 7.38 รากต่อต้น แต่มีความยากรากเฉลี่ยเพียง 1.17 เซนติเมตรแตกต่างกันทางสถิติกับพืชชนิดอื่นๆ (ตารางที่ 2 ภาพที่ 2) เช่นเดียวกับการทดลองของ กมลทิพย์ และคณะ (2561) ศึกษาการชักนำยอดของกระชายดำ บนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิดยอดสูงสุด 95 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดสูงสุด 3.75 ยอดต่อชิ้นส่วน และความสูงยอด 4.78 เซนติเมตร นอกจากนี้ Shukla และคณะ (2007) พบว่า การวางเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดของ *Curcuma angustifolia* Roxb. บนอาหารสูตร MS ร่วมกับ BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ ให้อัตราการเกิดยอดสูงสุด 80 เปอร์เซ็นต์ และมีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 6.9 ยอดต่อชิ้นส่วน จากการศึกษาเห็นได้ว่า พืชต่างชนิด ให้การตอบสนองในการเกิดยอดและรากที่ต่างกัน

2. ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและน้ำตาลแมนนิทอลต่อการชะลอการเติบโตของเปราะหอม

จากการศึกษาพบว่า ทุกทรีตเมนท์ให้การเกิดยอด 100 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 9 เดือน โดยไม่เปลี่ยนถ่ายอาหาร เมื่อตรวจสอบจำนวนยอดพบว่า อาหารสูตร ¼ MS ให้จำนวนยอดและความสูงเฉลี่ยน้อยที่สุด 5.27 ยอดต่อกอ และ 5.71 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนอาหารสูตร MS ให้จำนวนยอด (6.33 ยอดต่อกอ) และความยาวยอดสูงสุด (9.17 เซนติเมตร) แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง สำหรับปัจจัยด้านความเข้มข้นของน้ำตาลแมนนิทอล พบว่า การเติมน้ำตาลแมนนิทอลที่ความเข้มข้นสูงขึ้น ช่วยให้เปราะหอมมีจำนวนยอดเพิ่มขึ้น แต่ความยอดน้อยลง โดยมีจำนวนยอดสูงสุดที่น้ำตาลแมนนิทอลความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (6.72 ยอดต่อกอ) (ตารางที่ 3, ภาพที่ 3) ในขณะที่ความยาวยอดต่ำสุดที่เมื่อเติมน้ำตาลแมนนิ-ทอลที่ 3 เปอร์เซ็นต์ (4.30 เซนติเมตร) (ตารางที่ 4, ภาพที่ 4) นอกจากนี้พบว่า ปัจจัยด้านความเข้มข้นของสูตรอาหารมีปฏิสัมพันธ์กับความเข้มข้นของน้ำตาล แมนนิทอล จากการศึกษาข้างต้นเห็นได้ว่า อาหารสูตร MS และเติมน้ำตาลแมนนิทอลเพียงความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ มีความเหมาะสมในการชะลอการเจริญเติบโตสูงสุด ทั้งนี้เนื่องจากน้ำตาลแมนนิทอลเป็นหนึ่งในน้ำตาลแอลกอฮอล์ช่วยสร้างสภาวะเครียดกับพืช ส่งผลให้ชิ้นส่วนพืชค่อยๆ ดูดธาตุอาหารได้ทีละน้อย

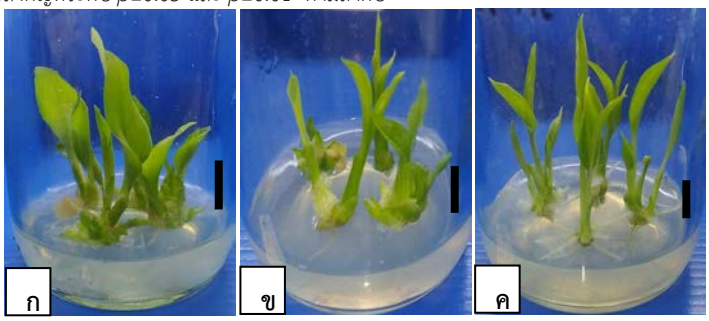
จากการศึกษาสอดคล้องกับ Mohanty และคณะ (2014) รายงานว่า การอนุรักษ์พันธุกรรมพืชวงศ์ขิงจำนวน 9 ชนิดที่เก็บรวบรวมในบริเวณภาคตะวันออกของประเทศอินเดีย ได้แก่ *Z. rubens Z. zerumbet C. aromatica C. amada C. caesia K. galanga A. galanga H. coronarium* และ *G. marantina* เก็บรักษาโดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และที่ลดองค์ประกอบของสูตรอาหารลงครึ่งหนึ่งร่วมกับการเพิ่มหรือลดความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสและแมนนิทอล สามารถเก็บรักษาชิ้นส่วนพืชโดยไม่มีการย้ายเลี้ยงได้นานถึง 8-12 เดือน และให้อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนอยู่ในช่วง 50-90 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Parida และคณะ (2018) ศึกษาการเก็บรักษาพืชวงศ์ขิง *Clobba marantina* โดยการลดความเข้มข้นของธาตุอาหารลงร่วมกับการเติมน้ำตาลแมนนิทอล 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถเก็บรักษา *C. marantina* ได้ถึง 220 วัน และให้อัตราการรอดชีวิตถึง 70 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่า การใช้น้ำตาลแมนนิทอลในการอนุรักษ์พันธุกรรมในหลอดทดลอง เช่น มันฝรั่ง (Gopal *et al*., 2010) และผลบัวหิมะ (Skalova *et. al*., 2012)

ตารางที่ 2 ผลของชนิดพืชต่อการเพิ่มปริมาณยอดและราก บนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

ชนิดพืช	การเกิดยอด (%)	จำนวนยอด/ชิ้นส่วน	ความยาวยอด (ซม)	การชักนำราก (%)	จำนวนราก/ยอด (รากต่อยอด)	ความยาวราก (ซม)
เปราะหอม	100.00	3.33a	2.49	100.00a	3.25b	1.67a
ขมิ้นชัน	95.83	1.68b	2.78	33.33b	1.67b	1.60a
ขมิ้นขาว	100.00	2.33b	3.15	100.00a	7.38a	1.17b
F-test	ns	**	ns	**	**	*
C.V. (%)	5.98	22.83	18.96	32.5	23.04	18.31

ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

*,** แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ $p \leq 0.05$ และ $p \leq 0.01$ ตามลำดับ



ภาพที่ 2 ผลของชนิดพืชต่อการเพิ่มปริมาณยอดและราก บนอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (บาร์ = 1 ซม.) (ก) เปราะหอม (ข) ขมิ้นชัน (ค) ขมิ้นขาว

ตารางที่ 3 ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและน้ำตาลแมนนิทอลต่อจำนวนยอดของเปราะหอมหลังการวางเลี้ยงเป็นเวลา 9 เดือน

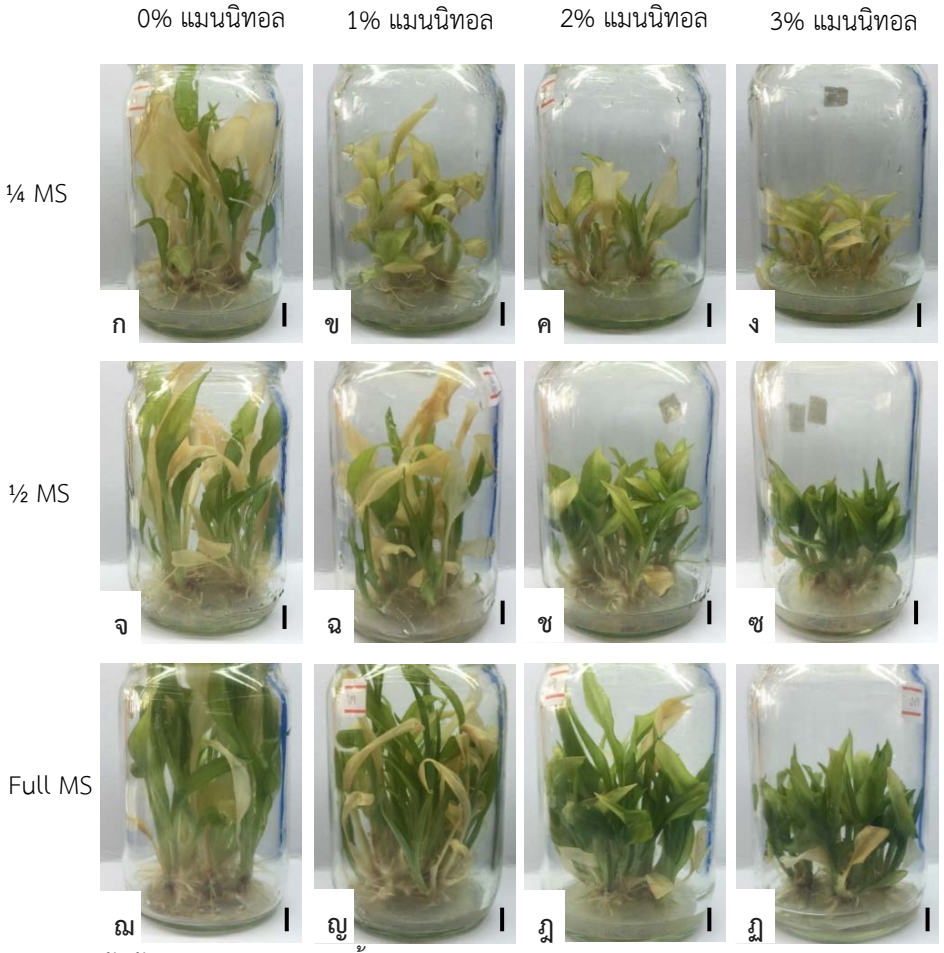
ความเข้มข้นของสูตรอาหาร	จำนวนยอดต่อกอ (ยอดต่อกอ)				ค่าเฉลี่ย ความเข้มข้นสูตรอาหาร
	ความเข้มข้นของแมนนิทอล (เปอร์เซ็นต์)				
	0	1	2	3	
¼ MS	4.17±0.42^{de}	6.42±0.29^{ab}C	5.38±0.19^{bcd}	5.13±0.42^{cd}	5.27±0.23^{B}
½ MS	4.46±0.23^{de}	6.33±0.29^{ab}C	6.96±0.54^{a}	6.83±0.56^{ab}	6.15±0.29^{AB}
Full MS	3.38±0.19^{e}	6.67±0.93^{ab}	7.38±0.52^{a}	7.46±0.63^{a}	6.33±0.47^{A}
ค่าเฉลี่ย ความเข้มข้นแมนนิทอล	4.00±0.19^{C}	6.47±0.34^{B}	6.72±0.35^{A}	6.47±0.38^{B}	
แมนนิทอล	**				
สูตรอาหาร	**				
แมนนิทอล x สูตรอาหาร	*				
C.V. (%)	20.02				

*,** แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ $p \leq 0.05$ และ $p \leq 0.01$ ตามลำดับ
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์และแถวเดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

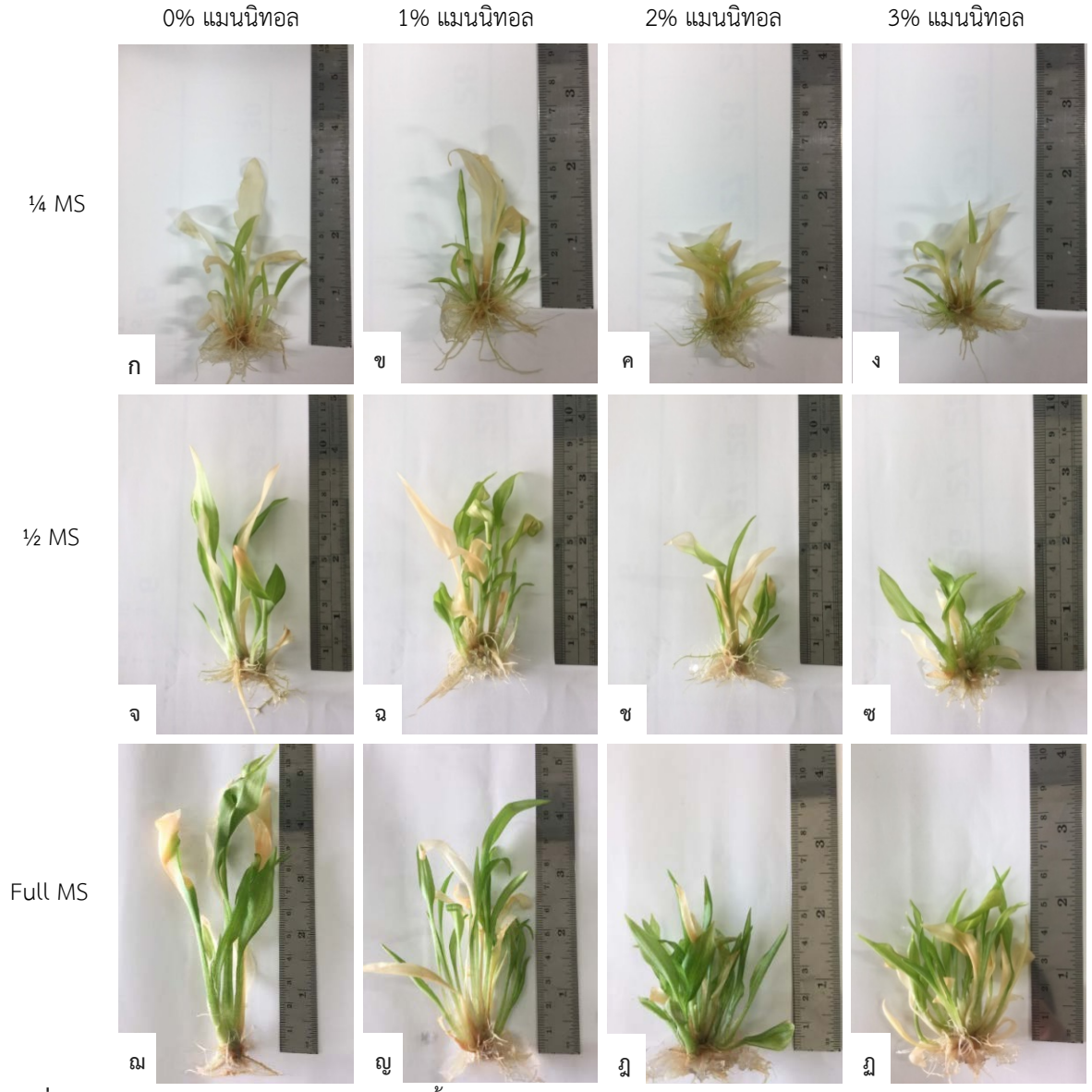
ตารางที่ 4 ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและน้ำตาลแมนนิทอลต่อความสูงยอดของเปราะหอม หลังการวางเลี้ยงเป็นเวลา 9 เดือน

ความเข้มข้นของสูตรอาหาร	ความสูง (เซนติเมตร/กอ)				ค่าเฉลี่ย ความเข้มข้นสูตรอาหาร
	ความเข้มข้นแมนนิทอล (เปอร์เซ็นต์)				
	0	1	2	3	
¼ MS	8.44±0.28^{C}	6.54±0.28^{de}	4.63±0.47^{fg}	3.25±0.28^{g}	5.71±0.44^{C}
½ MS	10.17±0.29^{b}	7.83±0.39^{cd}	5.54±0.28^{ef}	4.21±0.24^{fg}	6.94±0.50^{B}
Full MS	13.79±0.67^{a}	10.04±0.14^{b}	7.38±0.35^{cd}	5.46±0.28^{ef}	9.17±0.70^{A}
ค่าเฉลี่ย ความเข้มข้นแมนนิทอล	10.80±0.60^{A}	8.14±0.40^{B}	5.85±0.34^{B}	4.30±0.30^{C}	
แมนนิทอล	**				
สูตรอาหาร	**				
แมนนิทอล x สูตรอาหาร	**				
C.V. (%)	11.93				

** แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$)
ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์และแถวเดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT



ภาพที่ 3 ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและน้ำตาลแมนนิทอลต่อจำนวนยอดของเปราะหอมหลังการวางเลี้ยงเป็นเวลา 9 เดือน (บาร์ = 1 เซนติเมตร)
(ก) ¼ MS (ข) ¼ MS + 1 % แมนนิทอล (ค) ¼ MS + 2 % แมนนิทอล (ง) ¼ MS + 3 % แมนนิทอล
(จ) ½ MS (ฉ) ½ MS + 1 % แมนนิทอล (ช) ½ MS + 2 % แมนนิทอล (ซ) ½ MS + 3 % แมนนิทอล
(ฌ) MS (ญ) MS + 1 % แมนนิทอล (ฎ) MS + 2 % แมนนิทอล (ฏ) MS + 3 % แมนนิทอล



ภาพที่ 4 ผลของความเข้มข้นของสูตรอาหารและน้ำตาลแมนนิทอลต่อความสูงยอดของเปราะหอมหลังการวางเลี้ยงเป็นเวลา 9 เดือน

(ก) ¼ MS (ข) ¼ MS + 1 % แมนนิทอล (ค) ¼ MS + 2 % แมนนิทอล (ง) ¼ MS + 3 % แมนนิทอล
(จ) ½ MS (ฉ) ½ MS + 1 % แมนนิทอล (ช) ½ MS + 2 % แมนนิทอล (ซ) ½ MS + 3 % แมนนิทอล
(ฌ) MS (ญ) MS + 1 % แมนนิทอล (ฎ) MS + 2 % แมนนิทอล (ฏ) MS + 3 % แมนนิทอล

สรุปผลการทดลอง

การเพิ่มปริมาณยอดและรากหลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า พืชตระกูลขิงทั้ง 3 ชนิดคือ เปราะหอม ขมิ้นชัน และขมิ้นขาว สามารถเกิดยอดและรากได้ดีที่สุดในอาหารสูตรนี้ สำหรับการเก็บรักษาพันธุ์กรรมพืชในหลอดทดลอง พบว่า อาหารสูตร MS เติมน้ำตาลแมนนิทอล 2 เปอร์เซ็นต์ สามารถชะลอการเจริญเติบโตของเปราะหอมได้ดีที่สุด

คำขอบคุณ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ และภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ ผู้วิจัยขอขอบคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

กมลทิพย์ ไหลไผ่ทอง, สมปอง เตชะโต และ ทัศนี ขาวเนียม. 2561. การพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของกระชายดำในหลอดทดลอง. **วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์** 5: 13-18.

จรัสศรี นวลศรี. 2548. การปรับปรุงพันธุ์พืชสวน. สงขลา: ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ปริญา สุคนธรัตน์. 2558. การขยายพันธุ์ขมิ้นชันโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากหน่องอกนอกหลอดทดลอง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ภพเก้า พุทธรักษ์ และ วารุต อยู่คง. 2554. การอนุรักษ์ และการขยายพันธุ์มะคังขาว และผักหวานบ้านด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. **วารสารมหาวิทยาลัยนเรศวร** 19: 78-84.

Abdelmageed, A.H.A., Faridah, Z.Q., Norhana, A.M.F., Julia, A.A. and Kadir, A.M. 2011. Micropropagation of *Etlingera elatior* (Zingiberaceae) by using axillary bud explants. **Journal of Medicinal Plants Research** 51: 4465-4469.

Anchalee, J. 2012. Effects of NAA and sucrose on shoot induction and rapid micropropagation by trimming shoot of *Curcuma longa* L. **Thammasat International Journal of Science and Technology** 4: 54-60.

Gopal, J. and Chauhan, N.S. 2010. Slow growth *in vitro* conservation of potato germplasm at low temperature. **Potato Research** 53:141–149.

Goyal, K.A., Ganguly, K., Mishra, T. and Sen, A. 2010. *In vitro* multiplication of *Curcuma longa* Linn. an important medicinal zingiber. **NBU Journal of Plant Sciences** 4: 21-24.

Larsen, K. 2002. The Zingiberaceae in flora of Thailand. In the 3 rd Symposium on the Family Zingiberaceae. Khon Kaen, Thailand.

Mohanty, S., Parida, R., Sahoo, S. and Nayak, S. 2014. *In vitro* conservation of nine medicinally and economically important species of Zingiberaceae from Eastern India. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences 84: 799–803.

Parida, R., Mohanty, S. and Nayak, S. 2018. *In vitro* plant regeneration potential of genetically stable *Globba marantina* L., zingiberaceous species and its conservation. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences 88: 321–327.

Rahman, M.Z., Sharoar, M.G., Matin, M.N., Rahman, M.H., Rahman, M. M. and Islam, M.R. 2006. High frequency plant regeneration of a dessert banana cv. Mehersagar for commercial exploitation. **Biotechnology** 5: 296-300.

Sharma, K.S., Sharma, M. and Raina, V. 2013. In vitro protocol standardization for turmeric in Jammu division. **Journal of Biotechnology Research Center** 8: 55-57.

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

Skalova, I., Viehmannova, I. and Vitamvas, J. 2012. *In vitro* Conservation of *Smallanthus sonchifolius* under slow-growth conditions. **Agricultura Tropica Et Subtropica** 45: 147-150.

Zhang, S., Liu, N., Sheng, A., Ma, G. and Wu, G. 2011. Direct and callus-mediated regeneration of *Curcuma soloensis* Valeton (Zingiberaceae) and *ex vitro* performance of regenerated plants. **Scientia Horticulturae** 130: 899-905.