(แบบฟอร์ม)

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. แผนงานวิจัย : การอนุรักษ์ความหลากหลายของทรัพยากรพันธุกรรมพืช

2. โครงการวิจัยที่ 2 : โครงการวิจัยเทคโนโลยีการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชในธนาคารเชื้อพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร

3. กิจกรรมที่ 2 : **เทคโนโลยีการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อ**

4. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย): การอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชเจตมูลเพลิงแดงและเจตมูลเพลิงขาวโดยวิธีชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ): *In vitro* conservation of Chettamuun Phloeng Daeng and Chettamuun Phloeng Khaw via slow growth technique.

5. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	: นางสาวสุกัลยา ศิริฟองนุกูล	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
ผู้ร่วมงาน	: นางรัชนก ทองเวียง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
	: นายวรกิจ ห้องแซง	สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

6. บทคัดย่อ

การอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืชเจตมูลเพลิงขาวและเจตมูลเพลิงแดงในสภาพปลอดเชื้อ อาหารที่เหมาะสมในชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากสำหรับต้นเจตมูลเพลิงขาว คืออาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.5-1.0 มก./ล. และต้นเจตมูลเพลิงแดง คืออาหารสูตร MS ที่เติม BA 2.0 มก./ล. จากนั้นจึงทดสอบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้ต้นเจตมูลเพลิงขาวและเจตมูลเพลิงแดงเกิดรากที่สมบูรณ์และเหมาะแก่การย้ายออกปลูกในธรรมชาติได้ พบว่า อาหารสูตร MS และ half-MS สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีและง่ายต่อการย้ายออกปลูกในธรรมชาติได้ง่าย เมื่อทดลองสูตรอาหารเพื่อชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า อาหารสูตรที่สามารถอนุรักษ์ต้นเจตมูลเพลิงขาวและเจตมูลเพลิงแดงในสภาพปลอดเชื้อจากการทดลองนี้ ได้เป็นเวลาอย่างน้อย 7-10 เดือน ได้แก่ อาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาล sucrose 2-3% ร่วมกับ การเติม mannitol 0-1%

7. คำนำ

เจตมูลเพลิงแดง (*Plumbago indica* L.) และเจตมูลเพลิงขาว (*P. zeylanica* L.) เป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้านของไทยที่สำคัญชนิดหนึ่ง อยู่ในวงศ์ PLUMBAGINACEAE เป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก ใบเดี่ยวรูปมนรี ปลายใบแหลม โคนใบมน มีสีเขียวอมแดงเรียงสลับกัน (alternate) ไปตามข้อต้น ดอกออกเป็นช่อที่ปลายกิ่ง (เจตมูลเพลิงแดง ดอกสีแดง, เจตมูลเพลิงขาว ดอกสีขาว) ในธรรมชาติพบกระจายพันธุ์อยู่ทั่วไปในประเทศเขตร้อน เป็นพืชสมุนไพรที่มีการใช้มานานในหลายประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ (Chuakul *et al.*, 1994; พเยาว์, 2539) โดยมีสรรพคุณเป็นยาขับประจำเดือน รักษาโรคทางโลหิตในสตรี ออกฤทธิ์ต่อมดลูก แก้ปอดชื้นปอดบวม กระตุ้น

การทำงานของลำไส้และกระเพาะอาหาร ช่วยขับน้ำย่อย แก้ปวดข้อ และช่วยระงับอาการปวดฟัน ช่วยลดอาการเหงือกอักเสบ (เพ็ญนภา, 2542) นอกจากนี้ ยังใช้ทาแก้กลากเกลื้อน รับประทานเพื่อขับพยาธิ และแก้ท้องร่วง (วิทย์, 2542) ในรากของเจตมูลเพลิงแดงและพืชชนิดอื่นในสกุลเดียวกันมีสารออกฤทธิ์ในกลุ่ม naphthoquinone ชื่อ plumbagin สะสมอยู่มากที่สุด มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ เช่นเชื้อแบคทีเรีย (Didry *et al.*, 1994) ต้านเชื้อมาลาเรีย (Nakornchai *et al.*, 1995) ต่อต้านมะเร็ง (Parimala and Sachdanandam, 1993) และยับยั้งการลอกคราบของหนอนผีเสื้อได้ (Kubo *et al.*, 1983) เป็นต้น โดยเฉพาะในประเทศไทย ในบัญชียาหลักแห่งชาติได้เพิ่มบัญชียาจากสมุนไพร ซึ่งเป็นยาแผนไทย หรือยาแผนโบราณ และยาพัฒนาจากสมุนไพร ที่สามารถใช้รักษาได้ในโรงพยาบาลต่างๆ (ประกาศคณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ, 2556) มีตำรับยาไทยหลายขนานที่ต้องใช้รากเจตมูลเพลิงแดงและ/หรือเจตมูลเพลิงขาว (จุลพิกัดยาต่างกันที่สี) เป็นส่วนประกอบสำคัญ

การนำรากเจตมูลเพลิงแดงมาใช้เป็นส่วนประกอบในตัวยาแผนไทย หรือการนำไปผลิตสาร plumbagin เพื่อเป็นการค้านั้น จะต้องใช้รากของเจตมูลเพลิงแดงที่มีขนาดเหมาะสมและมีคุณภาพดี ใช้เวลาในการปลูกหลายปีแต่การปลูกในเชิงการค้ายังมีน้อย และมีปริมาณไม่พอใช้ต้องนำเข้าจากประเทศเพื่อบ้าน ประกอบกับเกิดมหาอุทกภัยทำให้พื้นที่ปลูกพืชสมุนไพรต่างๆ ได้รับความเสียหายจำนวนมาก ทำให้มีผู้นิยมขุดเก็บรากออกมาจากป่าเพื่อนำไปใช้ประโยชน์หรือนำไปขายกันมากขึ้น ซึ่งต่อไปในอนาคตอาจทำให้เกิดการสูญพันธุ์ได้ จึงสมควรหาทางอนุรักษ์พืชชนิดนี้โดยการขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณมาก อย่างรวดเร็ว และนำกลับคืนสู่ป่า ซึ่งวิธีการอนุรักษ์และขยายพันธุ์ที่มีศักยภาพสูงคือ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (รังสฤษดิ์, 2540; อารีย์, 2541)

ความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ขึ้นอยู่กับปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้งที่มีอยู่ภายในเนื้อเยื่อพืชและที่เติมลงไปในอาหารเพาะเลี้ยง ซึ่งการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อพืชแบบต่างๆ นั้น พืชแต่ละชนิดมีความต้องการปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน สารควบคุมการเจริญเติบโตที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชคือ สารในกลุ่มออกซิน (Auxin) และไซโตไคนิน (Cytokinin) ซึ่งสารที่นิยมกันมากคือ NAA (naphthalene acetic acid) และ BA (N_6-benzyladenine) นอกจากนี้ สถานที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ต่างกันยังส่งผลให้การตอบสนองของเนื้อเยื่อพืชต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตนั้นแตกต่างกันไปด้วย

การอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช (Plant Conservation) โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant tissue culture) ก็คือการเก็บรักษาชิ้นส่วนหรือเนื้อเยื่อพืชไว้ในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารสังเคราะห์ที่มีธาตุอาหารสำหรับการเจริญเติบโตของพืช รวมทั้งอาจเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อกระตุ้นให้พืชที่เพาะเลี้ยงเกิดการสร้างยอด และ/หรือ ราก จำนวนมากได้ในหลอดทดลอง ซึ่งจะช่วยลดขนาดพื้นที่ในการเก็บรักษา และยังสามารถรวบรวมเชื้อพันธุกรรมพืชได้มากขึ้น ทำให้ช่วยลดค่าใช้จ่ายและพื้นที่ที่จำเป็นต้องใช้ในการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมได้มาก (Shibli *et al.*, 2006) การอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมพืช มีความสำคัญต่อชีวิต และความเป็นอยู่ของประชากรในอนาคตเป็นอย่างยิ่ง เพราะเป็นทรัพยากรที่มีค่าและมีความสำคัญต่อการปรับปรุงพันธุ์พืชในอนาคต ความหลากหลายทางพันธุกรรมของทรัพยากรเหล่านี้อาจจะสูญหายไป เนื่องจากความไม่รู้ของมนุษย์ในการใช้ทรัพยากรเหล่านี้ วิทยาการในการจำแนกและการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชจึงมีบทบาทสำคัญที่จะดำรงทรัพยากรนี้ให้ยั่งยืนและถูกต้องตามหลักวิชาการ การเก็บรักษาในระยะปานกลาง (Medium term storage) ก็คือการเก็บรักษาชิ้นส่วนหรือเนื้อเยื่อพืชในอาหารสังเคราะห์ที่ควบคุมการเจริญเติบโต ซึ่งช่วยลดขนาดพื้นที่ในการเก็บรักษาและรวบรวมได้ ประกอบกับการใช้เทคนิคการชะลอการเจริญ (Minimal growth storage) มาช่วยควบคุมการ

เจริญเติบโตของพืชในหลอดทดลองให้ช้าลง เพื่อยืดระยะเวลาการเปลี่ยนอาหารของเนื้อเยื่อพืชไปยังอาหารสังเคราะห์ชุดใหม่ ทำให้ช่วยลดค่าใช้จ่ายและปริมาณงานลงได้มาก (Shibli *et al*., 2006) ซึ่งพบรายงานเกี่ยวข้องดังนี้

สุภาภรณ์ (2546) ศึกษาการขยายพันธุ์เจตมูลเพลิงแดงโดยใช้ตายอดและตาข้างมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม BA 1-4 มก./ล. พบว่า อาหารสูตรที่เติม BA 3 มก./ล. ให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด โดยลักษณะของยอดที่เกิดมีขนาดเล็กเกาะกันแน่นเป็นกระจุก ยอดเหล่านี้เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มก./ล. พบว่า สามารถชักนำให้มีลักษณะสมบูรณ์ได้ จากนั้นจึงนำไปชักนำให้เกิดรากก่อนนำออกปลูก ซึ่งพบว่า สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีบนอาหารสูตร MS และ half-strength MS แต่รากที่เกิดขึ้นมีลักษณะแตกต่างกันคือ ในอาหารสูตร MS จะมีจำนวนรากน้อยกว่าและมีลักษณะยาว ในขณะที่ร้านที่เกิดในอาหารสูตร half-strength MS มีจำนวนรากที่เกิดใหม่มากกว่าแต่มีขนาดสั้นและมีรากขนเกิดขึ้นค่อนข้างมาก

Gbadamosi and Egunyomi (2010) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเอมบริโอ และชิ้นส่วนตาข้างของเจตมูลเพลิงขาว (*Plumbago zeylanica* L.) โดยเปรียบเทียบระหว่างสูตรอาหาร 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ใช้อาหารสูตร MS เป็นพื้นฐานกับสูตรที่ใช้ธาตุอาหารหลัก NPK ร่วมกับน้ำสกัดจาก *Citrus sinensis* โดยอาหารทั้งสองกลุ่มจะเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA (0.01-0.05 mg/l) ร่วมกับ BAP (2-4.5 mg/l) พบว่า การใช้สูตรอาหาร MS เป็นพื้นฐานนั้นสามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากกว่า

รมณีย์ และ ศาลักษณ์ (2547) ศึกษาผลของ mannitol ในการเก็บรักษาพันธุ์เจตมูลเพลิงแดง (*Plumbago indica* Linn.) โดยเลี้ยงชิ้นส่วนข้อที่มีตาข้าง 1 ตาบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ sucrose 30 ก./ล. เปรียบเทียบระหว่างสูตรอาหารที่เติม mannitol ความเข้มข้น 0, 20, 40 และ 60 ก./ล. และเติมด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต (BA 0.5 มก./ล. + IAA 0.16 มก./ล.) หรือไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เก็บรักษาไว้ที่ความเข้มแสง 50 $\mu mol/m^2/s$ ระยะเวลาให้แสง 12 ชั่วโมง/วัน อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยไม่เปลี่ยนอาหาร พบว่า mannitol สามารถชะลอการเจริญเติบโตของต้นอ่อนที่เจริญจากตาของข้อได้ โดยสูตรอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ความสูงของต้นจะลดลงถึง 83.1 เปอร์เซ็นต์ และ 93.3 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต การเพิ่มจำนวนยอดของต้นอ่อนมีแนวโน้มลดลงเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มี mannitol ความเข้มข้น 40 และ 60 ก./ล. ต้นอ่อนในอาหารที่เติม mannitol 20 ก./ล. สามารถเก็บรักษาได้ถึง 8 เดือนโดยไม่ตายและยังคงมีลักษณะสมบูรณ์แข็งแรง ต้นอ่อนที่ยังคงมีชีวิตในอาหารทุกสูตรสามารถเจริญเติบโตให้ยอดใหม่ได้เมื่อย้ายไปเลี้ยงบนอาหารใหม่

ศิริกุล และคณะ (2548) ศึกษาการเก็บรักษาปลายยอดจำปีสิรินธร (*Magnolia sirindhornias* Noot. & Chalermglin) ในหลอดทดลองระยะปานกลางในสภาพชะลอการเจริญ (minimal growth condition) พบว่า ความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ความเข้มข้นของน้ำตาล 2 ชนิดคือ น้ำตาลซูโครส และแมนนิทอล และความเข้มข้นของสารชะลอการเจริญเติบโตแพคโคบิวทาโซล ต่างก็มีผลต่อการเก็บรักษาปลายยอดจำปีสิรินธร โดยความเข้มข้นของธาตุอาหารหลัก 3/4MS น้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร และสารแพคโคบิวทาโซล 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เก็บรักษาปลายยอดได้นานสูงที่สุดถึง 7 เดือน ตรวจพบการรอดชีวิต 73.3±8.2%

8. วิธีดำเนินการ

ทำการทดลองที่ห้องปฏิบัติการสำนักพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

1.) การชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก

การชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก โดยตัดชิ้นส่วนตายอดและตาข้างจากชิ้นพืชในสภาพปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS + sucrose 3% ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 3 ชนิดได้แก่ BA (N_6-benzyladenine), Kn (Kinetin) และ TDZ (Thidiazuron) โดยมีรายละเอียดดังนี้

สูตรที่ 1 BA 0.5 มก./ล. สูตรที่ 2 BA 1.0 มก./ล.

สูตรที่ 3 BA 2.0 มก./ล. สูตรที่ 4 Kn 0.5 มก./ล.

สูตรที่ 5 Kn 1.0 มก./ล. สูตรที่ 6 Kn 2.0 มก./ล.

สูตรที่ 7 TDZ 0.5 มก./ล. สูตรที่ 8 TDZ 1.0 มก./ล.

สูตรที่ 9 TDZ 2.0 มก./ล. สูตรที่ 10 ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (Control)

เพาะเลี้ยงในสภาพที่ให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 16 ช.ม./วัน อุณหภูมิ 25±2 ซ เป็นเวลา 2 เดือน วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ได้ 10 ทรีทเมนต์ จำนวน 10 ซ้ำ/ทรีทเมนต์ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 2 ชิ้นส่วนพืช บันทึกผล จำนวนยอดเฉลี่ยต่อชิ้น จำนวนใบเฉลี่ยต่อชิ้น ความยาวเฉลี่ยของยอด ลักษณะการเกิดยอด เปอร์เซ็นต์การเกิดราก

2.) การชักนำให้เกิดราก

นำยอดที่มีลักษณะสมบูรณ์ ความสูง 1.5-2.0 ซม. มาเพาะเลี้ยงบนอาหารทดลอง 6 สูตร ได้แก่

สูตรที่ 1 MS (Control)

สูตรที่ 2 ½ MS

สูตรที่ 3 ½ MS + NAA 0.25 มก./ล.

สูตรที่ 4 ½ MS + NAA 0.50 มก./ล.

สูตรที่ 5 ½ MS + IAA 0.25 มก./ล.

สูตรที่ 6 ½ MS + IAA 0.50 มก./ล.

(หมายเหตุ : ½ MS คือสูตรอาหาร MS ที่ลดความเข้มข้นของธาตุอาหารลง ½ ของสูตรปกติ)

ทุกสูตรเติม sucrose 3% เลี้ยงในสภาพที่ให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์ เป็นเวลา 16 ช.ม./วัน อุณหภูมิ 25±2 ซ เป็นเวลา 2 เดือน วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 10 ซ้ำ/ทรีทเมนต์ ซ้ำละ 1 ขวด ขวดละ 2 ชิ้นส่วนพืช บันทึกผล เปอร์เซ็นต์การเกิดราก ลักษณะของราก จำนวนราก ความยาวเฉลี่ยราก น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของราก

3.) การเก็บรักษาเชื้อพันธุ์พืชโดยชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

นำยอดที่มีลักษณะสมบูรณ์ความยาวประมาณ 1-2 ซ.ม. มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลสองชนิดเพื่อทดลองชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อพันธุ์พืชในสภาพปลอดเชื้อ คือ sucrose และ mannitol วางแผนการทดลองแบบ 2x4 factoria in CRD มี 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1) ปริมาณซูโครส 2 ระดับ ได้แก่ 2% และ

3% และปัจจัยที่ 2) ปริมาณ mannitol 4 ระดับ ได้แก่ 0% 1% 2% และ 4% คิดเป็น 8 ทรีทเมนต์คอมบิเนชั่น ทรีทเมนต์ละ 10 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ขวด ขวดละ 2 ชิ้นส่วนพืช โดยไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

บันทึกผลการทดลองที่ระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 2, 4, 6 และ 8 เดือน โดยไม่เปลี่ยนอาหารใหม่

บันทึกข้อมูล
- ระยะเวลา (จำนวนเดือน) ที่เก็บรักษา
- เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต เปอร์เซ็นต์จำนวนยอดที่ยังไม่เหลืองทั้งยอด
- ความสูงเฉลี่ยของทรงพุ่ม (เซนติเมตร)
- ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดที่เกิดขึ้นใหม่
- เปอร์เซ็นต์การเกิดราก

<u>เวลาและสถานที่ทำการทดลอง</u>

การทดลองนี้เริ่มต้น เดือน ตุลาคม 2558 สิ้นสุด เดือน กันยายน 2561 โดยดำเนินการทดลองที่ห้องปฏิบัติการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ (บางเขน) สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร

9. ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดลอง

<u>การชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก</u>

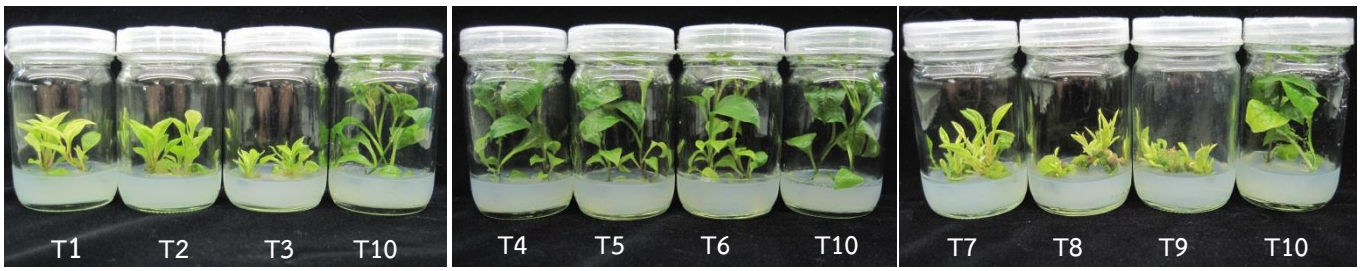
เจตมูลเพลิงขาว

จากการศึกษาสูตรอาหารในการชักนำเจตมูลเพลิงขาวให้เกิดยอด พบว่า สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลองทั้งหมดจำนวน 8 สูตร (T1-T3,T5-T9) สามารถชักนำให้เกิดยอดในเจตมูลเพลิงขาวได้ดีกว่าสูตรควบคุม (T10) อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดย สูตรที่ 1 (MS+BA 0.5 มก./ล.) ชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด มีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 3.25 ยอด รองลงมาได้แก่ สูตรที่ 2 (MS+BA 1.0 มก./ล.) และสูตรที่ 3 (MS+BA 2.0 มก./ล.) โดยให้จำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 3.29 และ 2.20 ยอด เมื่อดูลักษณะความสูงทรงพุ่ม ของเจตมูลเพลิงขาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม BA (T1-T3) และ TDZ (T7-T9) ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า ความสูงและลักษณะการแตกยอดของทรงพุ่มมีความแตกต่างจากต้นเจตมูลเพลิงขาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม KN (T4-T5) ที่ความเข้มข้นต่างๆ อย่างเห็นได้ชัด โดยเจตมูลเพลิงขาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม KN จะมีลักษณะแตกยอดและยืดสูงขึ้น ใบแผ่ออกและมีช่วงห่างกันชัดเจน เป็นเป็นสีเขียวเข้ม ส่วนเจตมูลเพลิงขาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA และ TDZ นั้นทรงพุ่มมีขนาดสั้นกว่า ใบมีสีอ่อนกว่า และช่วงห่างของใบแต่ละชั้นแคบกว่าจนเห็นเป็นกระจุก นอกจากนี้ มีเพียงอาหารสูตรที่เติม KN (T4-T5) และสูตรควบคุม (T10) สามารถทำให้เจตมูลเพลิงขาวออกรากได้ ตามลำดับ (ตารางที่ 1, ภาพที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลการชักนำต้นเจตมูลเพลิงขาวให้เพิ่มจำนวนยอดอย่างรวดเร็วในสภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 60 วัน

	สูตรอาหาร	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด)	ความสูงทรงพุ่มเฉลี่ย (ซม.)	การเกิดราก (ร้อยละ)
T1	สูตรที่ 1 MS+BA 0.5 มก./ล.	3.25a	2.84de	0
T2	สูตรที่ 2 MS+BA 1.0 มก./ล.	2.94a	2.62de	0
T3	สูตรที่ 3 MS+BA 2.0 มก./ล.	2.20b	2.23de	0
T4	สูตรที่ 4 MS+KN 0.5 มก./ล.	1.19e	3.73bc	50
T5	สูตรที่ 5 MS+KN 1.0 มก./ล.	1.55d	4.06b	67
T6	สูตรที่ 6 MS+KN 2.0 มก./ล.	1.94bc	3.09cd	67
T7	สูตรที่ 7 MS+TDZ 0.5 มก./ล.	2.06bc	2.16e	0
T8	สูตรที่ 8 MS+ TDZ 1.0 มก./ล.	2.03bc	2.10e	0
T9	สูตรที่ 9 MS+ TDZ 2.0 มก./ล.	1.81cd	2.17e	0
T10	สูตรที่ 10 สูตรควบคุม (control)	1.08e	6.94a	100
	F-value	**	**	

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ



ภาพที่ 1 ต้นเจตมูลเพลิงขาวเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ (T1-T9) เปรียบเทียบกับเจตมูลเพลิงขาวเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรควบคุม (T10)

เจตมูลเพลิงแดง

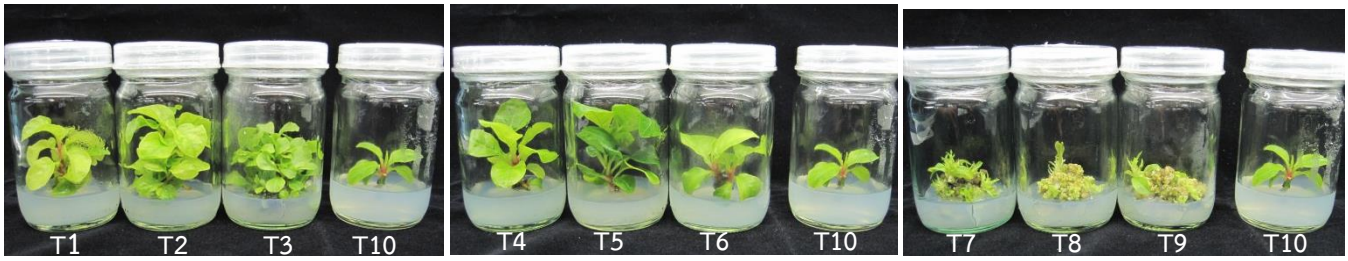
จากการศึกษาสูตรอาหารในการชักนำเจตมูลเพลิงแดงให้เกิดยอด พบว่า สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลองทั้งหมดจำนวน 9 สูตร (T1-T9) สามารถชักนำให้เกิดยอดในเจตมูลเพลิงแดงได้ดีกว่าสูตรควบคุม (T10) อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดย สูตรที่ 3 (MS+BA 2.0 มก./ล.) ชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด มีจำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 18.01 ยอด รองลงมาได้แก่ สูตรที่ 7 (MS+TDZ 0.5 มก./ล.) และสูตรที่ 8 (MS+TDZ 1.0 มก./ล.) โดยให้จำนวนยอดเฉลี่ยเท่ากับ 17.14 และ 15.67 ยอด แต่ลักษณะยอดที่เกิดขึ้นบนอาหารสูตรที่เติม TDZ นั้น ถึงแม้จะมีจำนวนยอดมาก แต่ยอดที่เกิดใหม่ มีขนาดเล็ก ใบเรียวแหลม และมีการเกิด callus ที่ดูเหมือนปุ่ม/ก้อน เกาะกันอยู่หนาแน่น เมื่อดูลักษณะความสูงทรงพุ่ม พบว่า เจตมูลเพลิงแดงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA และ KN (T1-

T6) ให้ความสูงของทรงพุ่มแตกต่างจากอาหารที่เติม TDZ (T4-T5) อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง สูตรอาหารที่เติม BA (T1-T3) KN (T4-T5) และสูตรควบคุม (T10) สามารถทำให้เจตมูลเพลิงแดงออกรากได้ (ตารางที่ 2, ภาพที่ 2)

ตารางที่ 2 จำนวนยอดเฉลี่ยและความสูงเฉลี่ยทรงพุ่มต้นเจตมูลเพลิงแดงเพาะเลี้ยงบนอาหารทดลองชักนำให้เกิดยอดในสภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 90 วัน

	สูตรอาหาร	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด)	ความสูงทรงพุ่มเฉลี่ย (ซม.)	การเกิดราก (ร้อยละ)
T1	สูตรที่ 1 MS + BA 0.50 mg/l	3.43c	2.99ab	14.3
T2	สูตรที่ 2 MS + BA 1.00 mg/l	6.50c	3.67a	14.3
T3	สูตรที่ 3 MS + BA 2.00 mg/l	18.01a	2.39bc	0.0
T4	สูตรที่ 4 MS + KN 0.50 mg/l	1.71c	3.06ab	28.6
T5	สูตรที่ 5 MS + KN 1.00 mg/l	1.14c	3.41ab	100.0
T6	สูตรที่ 6 MS + KN 2.00 mg/l	1.57c	3.37ab	57.1
T7	สูตรที่ 7 MS + TDZ 0.50 mg/l	17.14a	0.51d	0.0
T8	สูตรที่ 8 MS + TDZ 1.00 mg/l	15.67ab	0.52d	0.0
T9	สูตรที่ 9 MS + TDZ 2.00 mg/l	7.40bc	0.36d	0.0
T10	สูตรที่ 10 สูตรควบคุม (control)	1.00d	1.49cd	14.3
	F-value	**	**	

ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ



ภาพที่ 2 ต้นเจตมูลเพลิงแดงเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ (T1-T9) เปรียบเทียบกับเจตมูลเพลิงแดงเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรควบคุม (T10)

การชักนำให้เกิดราก

เจตมูลเพลิงขาว

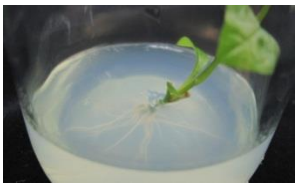
จากการศึกษาสูตรอาหารเพื่อชักนำให้เจตมูลเพลิงขาวเกิดรากในสภาพปลอดเชื้อ มีอาหารที่ใช้ในการทดลองจำนวน 5 สูตร และอาหารสูตรควบคุม (control) 1 สูตร พบว่า ทุกสูตรสามารถชักนำให้เจตมูลเพลิงขาวเกิดรากในสภาพปลอดเชื้อได้ โดยสูตรอาหารที่ชักนำให้เจตมูลเพลิงขาวเกิดรากได้ดีคือ สูตรที่ 1 (MS) สูตรที่ 2 (1/2MS) และสูตรที่ 5 (1/2MS+IAA 0.25 มก./ล.) สามารถชักนำให้เกิดรากได้ร้อยละ 100 ทั้งสามสูตร พบว่า

สูตรอาหารที่ใช้ NAA มีอัตราการเกิดรากน้อยกว่าอย่างเห็นได้ชัด และลักษณะรากที่เกิดเป็นรากขนอ่อนบางเกาะรวมกันหลวมๆ และยังพบอีกว่า ยอดเจตมูลเพลิงขาวส่วนใหญ่มีการเจริญเติบโตน้อยมาก และหยุดชะงักการเจริญไปเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่เติม NAA เพียงอย่างเดียว ส่วนใหญ่จะเกิดแคลลัสที่บริเวณรอยตัดซึ่งมีทั้ง compact callus และ fiable callus และเกิดรากน้อยมาก (ตารางที่ 3, ภาพที่ 3)

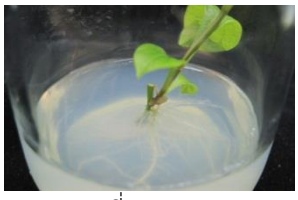
ตารางที่ 3 ผลการชักนำต้นเจตมูลเพลิงขาวให้เกิดรากในสภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 60 วัน

สูตรอาหาร	การเกิดราก (ร้อยละ)	จำนวนรากเฉลี่ย (นับได้-เส้น)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
สูตรที่ 1 MS (สูตรควบคุม)	100.0	4.78	3.46
สูตรที่ 2 1/2MS	100.0	5.41	4.62
สูตรที่ 3 1/2MS+NAA 0.25 มก./ล.	29.4	n/a[1]	n/a[1]
สูตรที่ 4 1/2MS+NAA 0. 05 มก./ล.	41.2	n/a[1]	n/a[1]
สูตรที่ 5 1/2MS+IAA 0.25 มก./ล.	100.0	7.95	7.39
สูตรที่ 6 1/2MS+IAA 0.50 มก./ล.	93.8	10.13	4.99

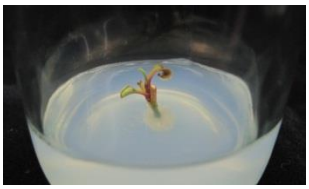
n/a[1] = **no data**



สูตรที่ 1 MS (control)



สูตรที่ 2 1/2MS



สูตรที่ 3 1/2MS+NAA 0.25 มก./ล.

สูตรที่ 4 1/2MS+NAA 0. 50 มก./ล.

สูตรที่ 5 1/2MS+IAA 0.25 มก./ล.

สูตรที่ 6 1/2MS+IAA 0.50 มก./ล.

ภาพที่ 3 การทดลองการชักนำต้นเจตมูลเพลิงขาวให้เกิดรากในสภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 60 วัน

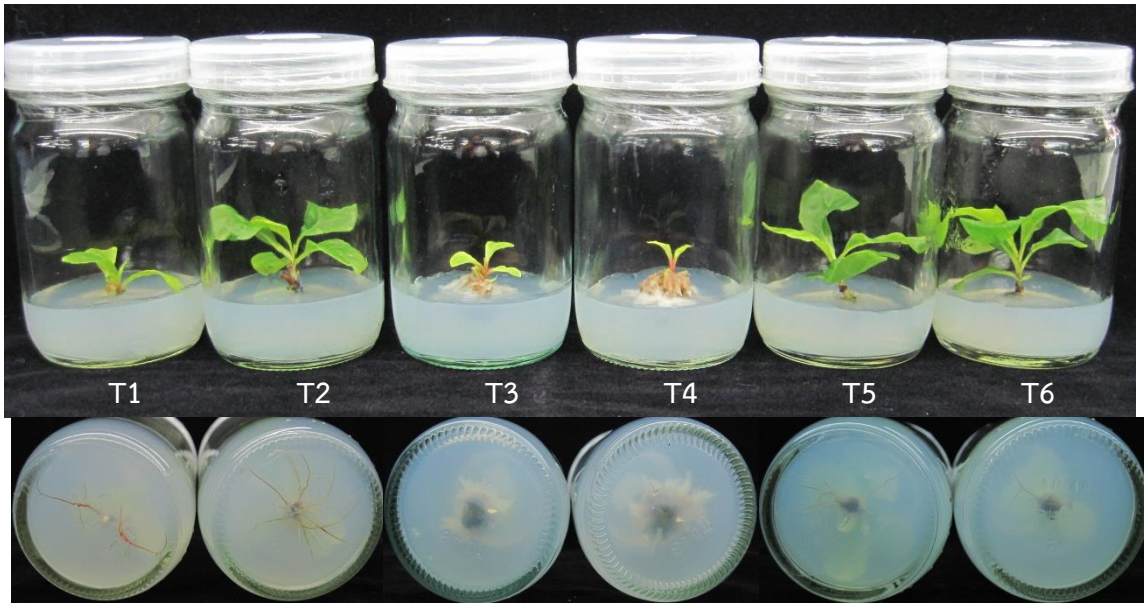
เจตมูลเพลิงแดง

จากการศึกษาสูตรอาหารเพื่อชักนำให้เจตมูลเพลิงแดงเกิดรากในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า ทุกสูตรสามารถชักนำให้เจตมูลเพลิงแดงเกิดรากในสภาพปลอดเชื้อได้ โดยสูตรอาหารที่ชักนำให้เจตมูลเพลิงแดงเกิดรากได้ดีที่สุด คือ สูตรที่ 2 (1/2MS) และสูตรที่ 6 (1/2MS+IAA 0.50 มก./ล.) สามารถชักนำให้เกิดรากได้ร้อยละ 100 รองลงมาคือสูตรที่ 1 (MS) และสูตรที่ 5 (1/2MS+IAA 0.25 มก./ล.) สามารถชักนำให้เกิดรากได้ร้อยละ 87.5 และยังพบว่า สูตรอาหารที่ใช้ NAA ทั้งสองสูตรซึ่งมีอัตราการเกิดรากน้อยกว่า ลักษณะรากที่เกิดเป็นรากขนอ่อนฟูเกาะรวมกัน ทำให้ไม่สามารถนับเป็นจำนวนและวัดความยาวรากได้ (ตารางที่ 4, ภาพที่ 4)

ตารางที่ 4 ร้อยละการเกิดรากของเจตมูลเพลิงแดงเพาะเลี้ยงบนอาหารทดลอง เป็นเวลา 60 วัน

สูตรอาหาร	การเกิดราก (ร้อยละ)	จำนวนรากเฉลี่ย (นับได้-เส้น)	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.)
สูตรที่ 1 MS (สูตรควบคุม)	87.5	4.38	2.11
สูตรที่ 2 1/2MS	100.0	5.00	2.24
สูตรที่ 3 1/2MS+NAA 0.25 มก./ล.	75.0	n/a[1]	n/a[1]
สูตรที่ 4 1/2MS+NAA 0.50 มก./ล.	62.5	n/a[1]	n/a[1]
สูตรที่ 5 1/2MS+IAA 0.25 มก./ล.	87.5	6.25	2.96
สูตรที่ 6 1/2MS+IAA 0.50 มก./ล.	100.0	8.16	2.32

n/a[1] = **no data**



ภาพที่ 4 ต้นเจตมูลเพลิงแดงเพาะเลี้ยงบนอาหารทดลองสูตรชักนำให้เกิดราก 6 สูตร (T1-T6) เป็นเวลา 60 วัน

การเก็บรักษาในสภาพชะลอการเจริญเติบโต (minimal growth storage)

เจตมูลเพลิงขาว

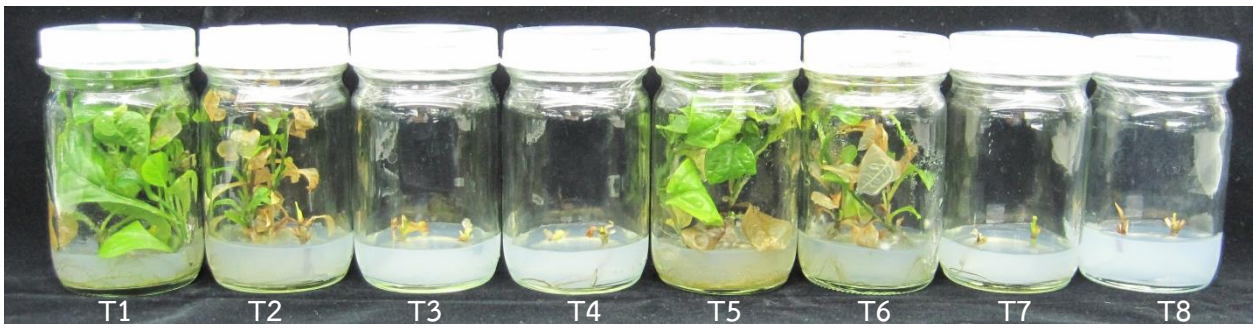
การทดลองสูตรอาหารเพื่อชะลอการเจริญเติบโตของต้นเจตมูลเพลิงขาวในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า สูตรอาหารที่เพาะเลี้ยงเจตมูลเพลิงขาวเพื่อชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อได้เป็นเวลานานที่สุดโดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหาร ได้แก่ อาหารทดลองสูตร MS+2%sucrose+0%manitol (T1) โดยสามารถยืดเวลาเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 7 เดือน รองลงมา ได้แก่ สูตร MS+2%sucrose+1%manitol (T2) สูตร MS+3%sucrose+1%manitol (T6) และสูตร MS+3%sucrose+0%manitol (T5) ตามลำดับ (6.8, 6.2 และ 6.1 เดือน ตามลำดับ) เจตมูลเพลิงขาวที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของ mannitol สูงขึ้น มีอัตราการเจริญเติบโตช้าหรือหยุดชะงัก และมีอัตราการรอดชีวิตน้อยมาก (ตารางที่ 5, ภาพที่ 5)

ตารางที่ 5 ผลการเพาะเลี้ยงต้นเจตมูลเพลิงขาวในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารทดลองชะลอการเจริญเติบโต จำนวน 8 สูตร

	สูตรอาหาร	ระยะเวลาเฉลี่ย* (เดือน)	จำนวนยอดเกิดใหม่เฉลี่ย** (ยอด)	การเกิดราก (ร้อยละ)
T1	MS+2%sucrose+0%manitol	7.0a	1.0	100
T2	MS+2%sucrose+1%manitol	6.8a	1.2	100
T3	MS+2%sucrose+2%manitol	4.9bc	0.8	80
T4	MS+2%sucrose+4%manitol	3.2d	0.6	20
T5	MS+3%sucrose+0%manitol	6.1ab	1.0	90
T6	MS+3%sucrose+1%manitol	6.2ab	1.0	100
T7	MS+3%sucrose+2%manitol	4.6c	0.7	80
T8	MS+3%sucrose+4%manitol	2.4d	0.1	20

*ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

** คำนวณค่าเฉลี่ยในภาพรวมของเดือนสุดท้ายที่เก็บข้อมูลได้ในแต่ละสูตรอาหาร



ภาพที่ 5 ต้นเจตมูลเพลิงขาวเพาะเลี้ยงบนอาหารทดลองสูตรชะลอการเจริญเติบโต 8 สูตร (T1-T8) เป็นเวลา 7 เดือน

เจตมูลเพลิงแดง

การทดลองสูตรอาหารเพื่อชะลอการเจริญเติบโตของต้นเจตมูลเพลิงแดงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า สูตรอาหารที่เพาะเลี้ยงเจตมูลเพลิงแดงเพื่อชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อได้เป็นเวลานานที่สุดโดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหาร ได้แก่ อาหารทดลองสูตร MS+2%sucrose+0%manitol (T1) และ สูตร MS+3%sucrose+0%manitol (T5) โดยสามารถยืดเวลาเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลาเฉลี่ย 10 เดือน รองลงมาได้แก่ สูตร MS+2%sucrose+1%manitol (T2) สามารถยืดอายุการเก็บรักษาเฉลี่ยได้ 7.7 เดือน และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 6, ภาพที่ 6)

<u>ตารางที่ 6</u> ผลการเพาะเลี้ยงต้นเจตมูลเพลิงแดงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารทดลองชะลอการเจริญเติบโต จำนวน 8 สูตร

	สูตรอาหาร	ระยะเวลาเฉลี่ย* (เดือน)	จำนวนยอดเกิดใหม่เฉลี่ย** (ยอด)	การเกิดราก (ร้อยละ)
T1	MS+2%sucrose+0%manitol	10.0a	1.1	100
T2	MS+2%sucrose+1%manitol	7.7a	1.0	90
T3	MS+2%sucrose+2%manitol	4.4b	0.7	0
T4	MS+2%sucrose+4%manitol	2.4b	0.8	20
T5	MS+3%sucrose+0%manitol	10.0a	1.0	100
T6	MS+3%sucrose+1%manitol	4.4b	1.0	40
T7	MS+3%sucrose+2%manitol	4.1b	1.1	10
T8	MS+3%sucrose+4%manitol	3.2b	0.9	10

* ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

** คำนวณค่าเฉลี่ยในภาพรวมของเดือนสุดท้ายที่เก็บข้อมูลได้ในแต่ละสูตรอาหาร

<u>ภาพที่ 6</u> ต้นเจตมูลเพลิงแดงเพาะเลี้ยงบนอาหารทดลองสูตรชะลอการเจริญเติบโต 8 สูตร (T1-T8) เป็นเวลา 10 เดือน

วิจารณ์ผลการทดลอง

<u>การชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก</u>

จากการทดลองสูตรอาหารเพื่อชักนำให้ต้นเจตมูลเพลิงขาวและเจตมูลเพลิงแดงเกิดยอดจำนวนมากในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า การเพาะเลี้ยงเจตมูลเพลิงขาวและเจตมูลเพลิงแดงในอาหารสังเคราะห์ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA KN และ TDZ (T1-T9) สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (control: T10) เนื่องจากสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 3 ชนิด เป็นสารในกลุ่มของไซโตไคนิน (cytokinin) ที่สามารถกระตุ้นการเกิดยอดหรือชักนำการสร้างตาข้างรวมทั้งเกิด callus ไปพร้อมกันได้ (รังสฤษดิ์, 2540) สอดคล้องกับรายงานของ Sivanesan and Jeong (2009) ที่พบว่า เมื่อนำชิ้นส่วน shoot tip และ node ของเจตมูลเพลิงขาวมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA หรือ KN ความเข้มข้น 0.3-3 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากกว่าสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เช่นเดียวกับรายงานของ สุภาภรณ์ (2546) ที่ได้นำชิ้นส่วนตายอดและตาข้างของเจตมูลเพลิงแดงมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1-4 มก./ล. พบว่า สามารถกระตุ้นให้ชิ้นส่วนพืชสร้าง organogenic callus ได้ดี และสามารถพัฒนาไปเป็นยอดได้จำนวนมาก อย่างไรก็ตาม ยอดของต้นเจตมูลเพลิงขาว และเจตมูลเพลิงแดงที่เกิดขึ้นบนอาหารที่เติม BA และ KN เป็นยอดที่มีลักษณะเป็นต้นใหม่สมบูรณ์กว่าอาหารที่เติม TDZ

<u>การชักนำให้เกิดราก</u>

จากการศึกษาสูตรอาหารเพื่อชักนำให้เจตมูลเพลิงขาว และเจตมูลเพลิงแดงให้เกิดรากในสภาพปลอดเชื้อ มีอาหารที่ใช้ในการทดลองจำนวน 5 สูตร และอาหารสูตรควบคุม (control) 1 สูตร พบว่า ทุกสูตรสามารถชักนำให้พืชทั้งสองชนิดเกิดรากในสภาพปลอดเชื้อได้ โดยรากที่เกิดบนอาหารสูตร MS half-MS และ half-MS ที่เติม IAA นั้น มีลักษณะเป็นเส้นยาวและแข็งแรง มีรากแขนงพอสมควรทำให้การนำออกปลูกทำได้ง่าย เพราะสามารถล้างทำความสะอาดได้ง่ายและต้นพืชไม่ชอกช้ำมากเกินไป ในขณะที่อาหารสูตร half-MS ที่เติม NAA นั้น พบว่า ยอดเจตมูลเพลิงขาวมีการเจริญเติบโตช้าและแคระแกร็น เกิดรากน้อยและส่วนใหญ่จะเกิดแคลลัสที่บริเวณรอยตัด ซึ่งมีทั้ง compact callus และ fiable callus ส่วนต้นเจตมูลเพลิงแดงบนอาหารสูตรเดียวกันนี้ให้ผลคล้ายกัน แต่ปรากฏรากขนอ่อนสั้นๆ เกาะเป็นกระจุกกันมากกว่าและมีลักษณะฉ่ำน้ำ ทำให้ไม่สามารถนำออกปลูกในธรรมชาติได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ สุภาภรณ์ (2546) ซึ่งเพาะเลี้ยงยอดเจตมูลเพลิงแดงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5-2 มก./ล. พบว่า เกิด callus สีเทา มีลักษณะฉ่ำน้ำบริเวณโคนต้นและเกิดรากจำนวนน้อยขนาดสั้นมาก เช่นเดียวกับ รศนา และสุภวรรณ (2543) รายงานผลการเพาะเลี้ยงเจตมูลเพลิงแดงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA พบว่า เกิด callus สีเทาเป็นปุยขนาดใหญ่ มียอดและรากงอกออกมาจาก callus ลักษณะลำต้นและก้านใบมีสีแดง ขนาดเล็ก ไม่ค่อยเจริญเติบโต

<u>การชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ</u>

จากการเพาะเลี้ยงเจตมูลเพลิงขาวและเจตมูลเพลิงแดงบนอาหารทดลองเพื่อชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 8 สูตร พบว่า เจตมูลเพลิงขาว และเจตมูลเพลิงแดง สามารถคงมีชีวิตอยู่ในอาหารทดลองได้โดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหาร

ใหม่ได้เป็นเวลานานที่สุด โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ในเจตมูลเพลิงขาว ได้แก่ อาหารสูตร MS+2%sucrose+0%manitol (T1) ที่ระยะเวลาเฉลี่ย 7.0 เดือน อาหารสูตร MS+2%sucrose+1%manitol (T2) ที่ระยะเวลาเฉลี่ย 6.8 เดือน อาหารสูตร MS+3%sucrose+1%manitol (T6) ที่ระยะเวลาเฉลี่ย 6.2 เดือน และอาหารสูตร MS+3%sucrose+0%manitol (T5) ที่ระยะเวลาเฉลี่ย 6.1 เดือน และในเจตมูลเพลิงแดง ได้แก่ อาหารสูตร MS+2%sucrose+0%manitol (T1) และ MS+3%sucrose+0%manitol (T5) ที่ระยะเวลาเฉลี่ย 10 เดือน และอาหารสูตร MS+2%sucrose+1%manitol (T2) ที่ระยะเวลาเฉลี่ย 7.7 เดือน จากผลการทดลองเจตมูลเพลิงแดงนั้นสามารถเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรทดลองเพื่อการชะลอการเจริญเติบโตสูตรที่ไม่เติม mannitol ได้นานกว่าเจตมูลเพลิงขาว ในขณะที่ในสูตรอาหารที่เติม mannitol 1% นั้นสามารถเพาะเลี้ยงได้นานเป็นเวลาใกล้เคียงกัน และเมื่อความเข้มข้นของ mannitol เพิ่มสูงขึ้น พบว่า ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเจตมูลเพลิงขาวและเจตมูลเพลิงแดงไปในทิศทางเดียวกันคือ ลดการเจริญเติบโตจนถึงกับหยุดชะงัก และสามารถเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อได้นานเพียง 2-4 เดือนเท่านั้น ต่างจากรายงานของ รมณีย์ และ ศาลักษณ์ (2547) ซึ่งสามารถเพาะเลี้ยงต้นเจตมูลเพลิงแดงในอาหารสูตร MS + 3%sucrose+2%manitol ได้นานถึง 8 เดือน โดยไม่มีการตายและยังคงมีลักษณะสมบูรณ์แข็งแรง อย่างไรก็ตาม การเพาะเลี้ยงเพื่อชะลอการเจริญเติบโตนั้น สูตรอาหารที่ใช้เพียง sucrose หรือ mannitol หรือ sorbitol อย่างใดอย่างหนึ่งเพียงชนิดเดียวไม่เหมาะสมต่อการชะลอการเจริญเติบโต (Nasiruddin and Rafiul Islam, 2018) จึงควรมีการศึกษาความเหมาะสมของปริมาณสารดังกล่าวในการใช้ร่วมกันในสูตรอาหารเพื่อชะลอการเจริญเติบโตของพืชต่อไป

10. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการทดลองนี้ การเพาะเลี้ยงต้นเจตมูลเพลิงขาวและเจตมูลเพลิงแดงเพื่อการอนุรักษ์ในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อให้ทราบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก การชักนำให้เกิดราก และการชะลอการเจริญเติบโตในหลอดทดลอง ให้ผลดังนี้

1. อาหารที่เหมาะสมในชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากสำหรับต้นเจตมูลเพลิงขาว คืออาหารสูตร MS ที่เติม BA 0.5-1.0 มก./ล. และต้นเจตมูลเพลิงแดง คืออาหารสูตร MS ที่เติม BA 2.0 มก./ล.

2. อาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้ต้นเจตมูลเพลิงขาวและเจตมูลเพลิงแดงเกิดรากที่สมบูรณ์และเหมาะแก่การย้ายออกปลูกในธรรมชาติได้ คืออาหารสูตร MS และ half-MS

3. อาหารสูตรที่สามารถอนุรักษ์ต้นเจตมูลเพลิงขาวและเจตมูลเพลิงแดงในสภาพปลอดเชื้อจากการทดลองนี้ ได้เป็นเวลาอย่างน้อย 7-10 เดือน ได้แก่ อาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาล sucrose 2-3% ร่วมกับ การเติม mannitol 0-1%

อย่างไรก็ตาม เป้าหมายการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อนั้น เพื่อการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชในสภาพหลอดทดลองโดยพืชที่อนุรักษ์ควรมีสภาพสมบูรณ์ระหว่างการเพาะเลี้ยง จึงควรมีการศึกษาทบทวนหาสูตรอาหารที่เหมาะสมโดยอาจเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของสูตรอาหาร/ชนิดของสารที่ใช้ในสูตรอาหาร/ชนิดของสูตรอาหาร ฯลฯ เพิ่มเพื่อประสิทธิภาพสูงสุดในการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์พืชเจตมูลเพลิงขาวและเจตมูลเพลิงแดงในสภาพปลอดเชื้อ

11. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

- สามารถนำข้อมูลสูตรอาหารที่เหมาะสมไปใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงเพื่อการอนุรักษ์พืชสมุนไพรเจตมูลเพลิงขาวและเจตมูลเพลิงแดงในสภาพปลอดเชื้อ ให้กับกลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืช สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร รวมทั้งนักวิจัยและผู้สนใจทั่วไป สามารถนำไปใช้ต่อยอดทางด้านการวิจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องในพืชสมุนไพรชนิดอื่นกลุ่มเดียวกันหรือใกล้เคียงกันได้

12. คำขอบคุณ (ถ้ามี)

-

13. เอกสารอ้างอิง

ปรียา พวงสำลี. 2542. **การขยายพันธุ์และการเพาะเลี้ยงรากของเจตมูลเพลิงแดงและเจตมูลเพลิงขาวโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ**. รายงานการวิจัย คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พเยาว์ เหมือนวงษ์ญาติ. 2539. **สมุนไพร: แก้ไขปรับปรุงใหม่จากตำราวิทยาศาสตร์สมุนไพร**. บริษัท ที.พี.พริ้นท์, กรุงเทพฯ.

เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ. 2542. **การแพทย์แผนไทยสายใยแห่งชีวิตและวัฒนธรรม เล่มที่ 2**. โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก, กรุงเทพฯ.

รมณีย์ เจริญทรัพย์ และศาลักษณ์ พรรณศิริ. 2547. **การเก็บรักษาพันธุ์เจตมูลเพลิงแดงในสภาพปลอดเชื้อ: ผลของ mannitol ต่อการเจริญของเนื้อเยื่อที่เก็บรักษา**. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42: สาขาพืช สาขาส่งเสริมและนิเทศศาสตร์เกษตร, หน้า 553-559

รศนา ชุมแสง และสุภวรรณ สุขสว่าง. 2543. การคัดเลือกต้นเจตมูลเพลิงแดงที่มีการสร้างสารในปริมาณสูงและการขยายพันธุ์. โครงงานนักศึกษา. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2540. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หลักการและเทคนิค**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 219 หน้า.

วิทย์ เที่ยงบูรณธรรม. 2542. **พจนานุกรมสมุนไพรไทย**. อักษรพิทยา. กรุงเทพฯ. 233 น.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช. 2552. **ย่อเภสัชกรรมไทยและสรรพคุณสมุนไพร**. พิมพ์ครั้งที่ 3. ศิลป์สยายบรรจุภัณฑ์และการพิมพ์, กรุงเทพฯ. 224 น.

ศิริกุล เกษา พัชรา ลิมปนะเวช สุมิตรา คงชื่นสิน ปิยรัษฎ์ ปริญญาพงษ์ และพรชัย จุฑามาศ. 2548. **การอนุรักษ์เชื้อพันธุ์จำปีสิรินธร *Magnolia sirindhorniae* Noot. & Chalermglin ในหลอดทดลองโดยการเก็บรักษาในภาวะชะลอการเจริญและการเก็บรักษาในไนโตรเจนเหลว**. วิทยานิพนธ์ปริญญา

โท, สาขาวิชาพฤกษศาสตร์, ภาควิชาพฤกษศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

สุภาภรณ์ ธาตรีโรจน์. 2546. **การขยายพันธุ์เจตมูลเพลิงแดงโดยการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากในสภาพปลอดเชื้อ**. ปัญหาพิเศษปริญญาโท. ภาควิชาพืชสวน. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 28 น.

อารีย์ วรัญญูวัฒก์. 2541. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช**. อติสรรค์, กรุงเทพฯ. 133 น.

Chuakul, W., P. Saralamp and P. Supataramanich. 1994. **Pharmacognostic characters of *Plumbago indica* Linn.** Mahidol J. Pharm. Sci. 21: 126-132.

Didry, N., L. Dubrevil and M. Pinkas. 1994. **Activity of anthroquinonic and naphthoquinonic compounds on oral bacteria**. Pharmazie. 49: 681-683.

Gbadamosi, I.T. and A. Egunyomi. 2010. **Micropropagation of *Plumbago zeylanica* L. (Plumbaginaceae) in Ibadan, Southwestern, Nigeria.** J. Med. Plant. Res. 4(4): 293-297.

Kubo, I., M. Uchida and J. A. Klocke. 1983. **An insect ecdysis inhibitor from the African medicinal plant, *Plumbago capensis* (Plumbaginaceae)**. Agric. Biol. Chem. 47: 911-913.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. **A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures**. Physiol. Plant. 15: 473-497.

Nakornchai, S., S. Anantavara and S. Yodsnaha. 1995. **Synergism between tetracycline and naphthoquinone antimalarial drug against chloroquine resistant *Plumbago falciparum.*** Mahidol University Annual Research Abstracts. 23: 296-297.

Nasiruddin, M. and AKM Rafiul Islam. 2018. *In vitro* slow-growth conservation for two genotypes of *Solanum tuberosum L.* Bangladesh J. Bot. 47(3): 369-380.

Parimala, R. and P. Sachdanandam. 1993. **Effect of plumbagin on some glucose metabolizing enzymes studied in rats in experimental hepatoma**. Mol. Cell. Biochem. 125: 59-63.

Shibli, R. A., M. A. Shatnawi, W. S. Subaih and M. M. Ajlouni. 2006. ***In vitro* conservation and cryopreservation of plant genetic resources: A Review**. World J. Agric. Sci. 2(4): 372-382.

Sivanesan, I. and B. R. Jeong. 2009. Micropropagation of *Plumbago zeylanica* L. Afr. J. Biotechnol. Vol. 8(16): 3761-3768.

14. ภาคผนวก

<u>ตารางผนวกที่ 1</u> องค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)

ส่วนประกอบ	มิลลิกรัมต่อลิตร
Macronutrients	
NH_4NO_3	1,650.00
KNO_3	1,900.00
$CaCl_2.2H_2O$	440.00
$MgSO_4.7H_2O$	370.00
KH_2PO_4	170.00
Micronutrients	
KI	0.83
H_3BO_3	6.20
$MnSO_4.7H_2O$	6.90
$ZnSO_4.7H_2O$	6.14
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
$CoCl_2.6H_2O$	0.025
$FeSO_4.7H_2O$	27.85
$Na_2EDTA.2H_2O$	37.25
Organic compounds	
myo-inositol	100.00
glycine	2.00
nicotinic acid	0.50
pyridoxine-HCl	0.50
thiamine-HCl	0.50
Other	
sucrose	30,000.00
pH	5.70-5.80