NU Science Journal 2005; 2(1): 73 - 86

ผลของแสง น้ำตาล และสารชะลอการเจริญเติบโตต่อการชักนำให้เกิดเหง้าจิ๋วของขมิ้นชันในหลอดทดลอง

อนุพันธ์ กงบังเกิด* และ วีระชน ยานะฝั่น

Effects of Light, Sucrose and Plant Growth Retardants on *in vitro* Microrhizome Induction of *Curcuma longa* L.

Anupan Kongbangkerd* and Weerachon Yanaphan

หน่วยวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก 65000

*Corresponding author. E-mail: anupank73@hotmail.com

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต้นของขมิ้นชัน อายุ 60 วัน ที่ชักนำให้เกิดขึ้นจากตาเหง้าบนอาหารแข็งสูตร Murashige and Skoog (MS) (1962) ดัดแปลง ที่เติมน้ำตาลซูโครส 4 ระดับ คือ 30, 60, 90 และ 120 กรัมต่อลิตร และนำไปเลี้ยงภายใต้สภาวะที่ให้แสง 0, 8 และ 24 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนต้นที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมน้ำตาลซูโครส 90 กรัมต่อลิตร และเลี้ยงภายใต้แสง 8 ชั่วโมงต่อวัน สามารถชักนำให้เกิดเหง้าจิ๋วในหลอดทดลองได้สูงสุด 85 เปอร์เซ็นต์และจากการทดลองเลี้ยงชิ้นส่วนต้นบนอาหารสูตร MS (1962) ดัดแปลง ที่เติมสารชะลอการเจริญเติบโตในกลุ่มพาโคลบิวทราโซล (paclobutrazol) ยูนิโคนาโซล (uniconazole) และแอนไซมิโดล (ancymidol) ที่ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1.0 กรัมต่อลิตร และวางเลี้ยงภายใต้แสง 8 ชั่วโมง เป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนต้นที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม uniconazole ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร ให้ร้อยละของการชักนำให้เกิดเหง้าจิ๋วได้สูงสุดร้อยละ 75.8

คำสำคัญ: *in vitro* เหง้าจิ๋ว *Curcuma longa* L.

Abstract

Sixty days old young induced shoots derived from sterile rhizome buds were cultured on modified Murashige and Skoog (MS) (1962) medium supplemented with various sucrose concentrations at 30, 60, 90 and 120 g/l. The cultures were incubated under various light durations at

0, 8 and 24 h/day for 16 weeks. The results revealed that the highest percentage of microrhizome induction (85%) was obtained from the explants cultured on the medium supplemented with 90 g/l sucrose and incubated under light regime for 8 h/day. Separated shoots were then transferred to the MS medium supplemented with various plant growth retardants; paclobutrazole, uniconazole and ancymidol at 0, 0.1, 0.5 and 1.0 mg/l, grown for 16 weeks. The results showed that the highest percentage of microrhizome production (75.8%) could be obtained from the medium supplemented with 1.0 mg/l uniconazole under 8 h/day light duration.

Keywords: *in vitro*, microrhizome, *Curcuma longa* L.

บทนำ

ขมิ้นชันมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Curcuma longa* L. อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae ขมิ้นชันเป็นพืชล้มลุก มีเหง้าใต้ดิน เนื้อในมีสีเหลืองอมส้ม มีกลิ่นหอม ใบออกเป็นรัศมีจากโคนที่ติดกับผิวดิน เป็นรูปหอกแกนขอบขนาน ดอกออกเป็นช่อ ใบประดับมีสีเขียวอ่อนหรือสีขาว ส่วนปลายเป็นรูปหอก เรียงซ้อนกันในใบประดับ 1 ใบ มี 2 ดอก ใบประดับย่อยรูปขอบขนานด้านนอกมีขน กลีบเลี้ยงเชื่อมติดกันเป็นรูปท่อ กลีบดอกสีขาวโคนเชื่อมติดกันเป็นท่อยาว ปลายแยกเป็นสามส่วน โดยมีกลีบหนึ่งซึ่งเป็นเกสรตัวผู้ที่พัฒนาไปคล้ายกลีบดอกมีขน อับเรณูอยู่ใกล้ๆ ปลายท่อเกสรตัวเมียที่อยู่ตรงส่วนปลายคล้ายรูปปากแตร รังไข่มี 3 ช่อง แต่ละช่องมีไข่อ่อน ขมิ้นชันมีถิ่นกำเนิดในประเทศแถบเอเชียใต้และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ปัจจุบันมีเขตการกระจายพันธุ์ทั่วไปในภูมิภาคที่มีอากาศร้อนหรือร้อนชื้นทั่วโลก

ขมิ้นชันเป็นพืชสมุนไพรที่ปลูกได้ทุกภาคของไทย ส่วนมากจะนำเหง้ามาใช้ประโยชน์หลายด้าน ได้แก่ นำมาปรุงเป็นยารักษาโรค นำมาเป็นส่วนผสมของเครื่องสำอางหรือนำมาทำเป็นเครื่องเทศในการประกอบอาหารโดยเฉพาะอาหารทางภาคใต้ (ภาณุทรรศน์, 2544) ในเหง้าของขมิ้นชันพบว่า มีสารน้ำมันหอมระเหย ซึ่งเป็นน้ำมันสีเหลืองประกอบด้วย เซสควิเทอร์พีนคีโตน (Sesquiterpene ketone) โดยส่วนใหญ่เป็นทูมีโรน (Tumerone) นอกจากนี้ยังมีสาร เออาร์-ทูมีโรน (ar-Tumerone) แอลฟ่า-อแทนโทน (α-Athantone) ซิงจิเบอร์รีน (Zingiberene) และ บอร์นีออล (Borneol) เป็นต้น ส่วนสารสีส้มมีชื่อว่า เคอร์คูมิน (Curcumin) ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการลดกรดในกระเพาะอาหาร

โดยทั่วไปแล้ว ขมิ้นชันสามารถขยายพันธุ์ได้ โดยการนำเหง้าแก่ที่มีตาปลูกลงดิน อย่างไรก็ตามการขยายพันธุ์ขมิ้นชันตามปกตินี้ให้ผลผลิตช้า เนื่องจากเหง้าขมิ้นชันมีระยะการพักตัวในช่วง

ฤดูแล้งก่อนที่จะแตกหน่อใหม่ (ภาณุทรรศน์, 2544) ฉะนั้นวิธีการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงเข้ามามีบทบาทในการผลิตต้นพันธุ์ที่มีคุณภาพดีให้ได้จำนวนมากในเวลาอันรวดเร็ว ปัจจุบันเทคนิคการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีการพัฒนาไปอย่างรวดเร็ว และการศึกษาการชักนำชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงของพืชเกิดการสร้างส่วนสะสมอาหารก็ประสบความสำเร็จมากมายในพืชหลายชนิดรวมทั้งพืชสกุลนี้ด้วย ตัวอย่างเช่น การศึกษาผลของแสงและปริมาณน้ำตาลต่อการชักนำให้เกิดการสร้างเหง้าจิ๋วของขิงขึ้นในหลอดทดลอง (Sharma and Singh, 1995) การศึกษาผลของฮอร์โมนไซโตไคนินปริมาณน้ำตาล และระยะเวลาในการให้แสงต่อการชักนำให้เกิดการสร้างเหง้าจิ๋วของว่านนางคำขึ้นในหลอดทดลอง (Nayak, 2000) และรายงานการศึกษาถึงผลของความเข้มข้นของอาหารและปริมาณน้ำตาลให้แสงต่อการชักนำให้เกิดการสร้างเหง้าจิ๋วของขมิ้นชันขึ้นในหลอดทดลอง (Shirgurkar *et al*., 2001) เป็นต้น ซึ่งจากตัวอย่างรายงานที่กล่าวมาจะเห็นว่า การผลิตเหง้าจิ๋วนั้นมีประโยชน์และข้อดีมากกว่าการผลิตเป็นต้นพืช เนื่องจากต้นพืชที่ชักนำให้เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้น เมื่อย้ายออกปลูกลงดินจะต้องทำการปรับสภาพแวดล้อมโดยการควบคุมความชื้นและความเข้มแสงให้มีความเหมาะสม ส่วนเหง้าจิ๋วทำการปลูกลงดินได้โดยไม่ต้องทำการปรับสภาพการเก็บรักษาและการขนย้ายยังทำได้ง่ายและสะดวกมากกว่า (Shirgurkar *et al*., 2001) อย่างไรก็ตาม ยังมีปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดการสร้างส่วนสะสมอาหารต่างๆ ขึ้นในหลอดทดลอง ในพืชหลายชนิด เช่น การศึกษาถึงผลของสารชะลอการเจริญเติบโตบางชนิดต่อการชักนำให้เกิดการสร้างหัวย่อยของแกลดิโอลัสในหลอดทดลอง (Ziv, 1989) เป็นต้น ดังนั้น การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเบื้องต้นถึงปัจจัยบางประการที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดเหง้าจิ๋วได้แก่ ผลของน้ำตาล แสง และสารชะลอการเจริญเติบโตของพืชบางชนิด

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัสดุพืชที่ใช้ในการทดลอง

นำเหง้าของขมิ้นชันพันธุ์ดีที่ได้รับการคัดพันธุ์และส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกเพื่อการค้า มาทำการล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา จากนั้นตัดเอาเฉพาะส่วนตาที่อยู่บนเหง้า (Rhizome buds) ขนาดประมาณ 1x1 เซนติเมตร มาฟอกฆ่าเชื้อที่บริเวณผิวด้วยสารละลาย $HgCl_2$ เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร/น้ำหนัก เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ แล้วย้ายลงแช่ในเอทธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร/ปริมาตร เป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นย้ายชิ้นส่วนตาเหง้าไปจุ่มแช่ในสารละลายคลอร็อกซ์ 15 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร/ปริมาตร เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำชิ้นส่วนตาเหง้าดังกล่าว มาล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2-3 ครั้ง ตัดย้ายเฉพาะส่วนของตาเหง้าวางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร

MS (1962) ที่ไม่เติมฮอร์โมน เพื่อชักนำให้เกิดการสร้างยอดใหม่ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ยอดใหม่ที่ได้นี้จะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

การเตรียมอาหารสังเคราะห์ที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

อาหารแข็งสูตรต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง จะทำการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารอยู่ระหว่าง 5.6 - 5.7 ทำการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121^{o}C นาน 20 นาที

การทดลองที่ 1 ผลของน้ำตาลและแสงต่อการชักนำให้เกิดเหง้าจิ๋ว

นำชิ้นส่วนต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงส่วนของตาเหง้า มาตัดใบ และรากออกให้มีความยาวเหลือประมาณ 1 เซนติเมตร วางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (1962) ที่ทำการดัดแปลงโดยแปรผันความเข้มข้นของน้ำตาลเป็น 30, 60, 90 และ 120 กรัมต่อลิตร นำไปเลี้ยงภายใต้แสงที่ความเข้มแสง 40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 8 และ 24 ชั่วโมงต่อวัน เปรียบเทียบกับชิ้นส่วนที่เลี้ยงในที่มืด โดยทำการเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์

การทดลองที่ 2 ผลของสารชะลอการเจริญเติบโตของพืชต่อการชักนำให้เกิดเหง้าจิ๋ว

นำชิ้นส่วนต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงส่วนของตาเหง้า มาตัดใบ และรากออกให้มีความยาวเหลือประมาณ 1 เซนติเมตร วางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ทำการดัดแปลงโดยการเติมน้ำตาล 90 กรัมต่อลิตร และเติมสารชะลอการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งได้แก่ Paclobutrazol (PAC) Uniconazole (UCZ) และ Ancymidol (ANC) ที่ผันแปรความเข้มข้นระดับ 0.1, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร นำไปเลี้ยงภายใต้แสงที่ความเข้มแสง 40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 8 ชั่วโมงต่อวัน โดยทำการเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์

การบันทึกผลการทดลองและการวิเคราะห์ทางสถิติ

การบันทึกผลการทดลอง ได้แก่ การสร้างยอดและรากใหม่ การเกิดแคลลัส การเกิดเป็นเหง้าจิ๋ว และการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาอื่นๆ โดยข้อมูลจากการทดลองทั้ง 2 การทดลอง มีจำนวน 30 ซ้ำต่อหน่วยทดลอง ทำการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ โดยใช้โปรแกรมทางสถิติ SPSS

ผลการทดลอง

จากการนำชิ้นส่วนต้นของขมิ้นชันขนาดยาวประมาณ 1 เซนติเมตร ที่ได้จากการเพิ่มจำนวนจากการเลี้ยงชิ้นส่วนของตาเหง้าในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารแข็งสูตร MS (1962) เป็นเวลา 60 วัน

แล้วนำมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (1962) ที่เติมน้ำตาลซูโครส ปริมาณต่างๆ คือ 30, 60, 90 และ 120 กรัมต่อลิตร วางเลี้ยงภายใต้สภาวะที่ให้แสง 8 และ 24 ชั่วโมงต่อวัน เปรียบเทียบกับชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงที่วางในที่มืด เป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนดังกล่าวเป็นเวลา 5-7 วัน ชิ้นส่วนเริ่มต้น เริ่มเกิดการแตกใบใหม่ โดยเฉพาะบนอาหารสูตรที่เติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ลักษณะของการแตกใบใหม่นี้เกิดขึ้นคล้ายกันในทุกสูตรอาหาร โดยเฉพาะชิ้นส่วนที่วางเลี้ยงในที่มีแสง 8 และ 24 ชั่วโมงต่อวัน และเมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 10-15 วัน ชิ้นส่วนส่วนใหญ่เริ่มมีการแตกยอดและรากใหม่ โดยพบว่าจำนวนใบ ยอด และรากใหม่จะเพิ่มมากขึ้น เมื่อเวลาผ่านไป ซึ่งจากการสังเกตพบว่า ใบ ราก และยอดใหม่ที่เกิดขึ้นมีการเจริญเติบโตที่ช้าลง เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเพิ่มมากขึ้น และเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนดังกล่าวต่อจนครบ 16 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารแต่ละสูตรมีการเปลี่ยนแปลง โดยชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารทุกสูตรที่วางเลี้ยงในที่มืด และในที่ให้ได้รับแสง 24 ชั่วโมงต่อวัน สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลจาก 30 กรัมต่อลิตร เป็น 60 และ 90 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลเป็น 120 กรัมต่อลิตร พบว่า อัตราการเกิดยอดลดลง ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับดัชนีการเจริญเติบโต (ตาราง 1) โดยยอดใหม่ที่เกิดขึ้นจากชิ้นส่วนที่เลี้ยงในที่มืดจะมีลักษณะลำต้นสีขาว ผอมบางและกาบใบที่เกิดขึ้นมีสีขาวยาวเรียว ส่วนใบมีสีเหลืองและม้วนงอ ในขณะที่รากมีสีขาวขนาดเล็กและแตกแขนงให้ขนรากจำนวนมาก นอกจากนี้ยังพบว่า การชักนำให้เกิดรากมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลจาก 30 กรัมต่อลิตร เป็น 60 และ 90 กรัมต่อลิตร และจำนวนรากที่ชักนำให้เกิดขึ้นมีแนวโน้มลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลเป็น 120 กรัมต่อลิตร อีกทั้งไม่พบการสร้างเหง้าจิ๋วจากชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารทุกสูตรทั้งที่เลี้ยงในที่มืดและภายใต้แสง 24 ชั่วโมงต่อวัน เช่นเดียวกับชิ้นส่วนที่วางเลี้ยงบนอาหารที่เติมน้ำตาลปริมาณ 30 กรัมต่อลิตร และในที่ให้ได้รับแสง 8 ชั่วโมงต่อวัน ที่ชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้น้อยที่สุด (2.3 ยอดต่อชิ้นส่วน) แต่ให้ยอดที่มีความสูงมากที่สุด (13.1 เซนติเมตร) โดยลักษณะของยอดมีขนาดของลำต้นใหญ่ สมบูรณ์ดี ใบมีสีเขียว และยอดใหม่ที่เกิดขึ้นนั้นให้ค่าความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด (5.8 เซนติเมตร) แต่มีการสร้างรากน้อยที่สุด (16.7 รากต่อชิ้นส่วน) ลักษณะของรากมีลักษณะยาวเรียว ขนาดเล็ก มีรากแขนงบ้างเล็กน้อยและไม่มีขนราก และไม่พบการสร้างเหง้าจิ๋วเช่นกัน อย่างไรก็ตาม ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มีการเติมน้ำตาลเพิ่มขึ้นเป็น 60 กรัมต่อลิตร และให้ได้รับแสง 8 ชั่วโมงต่อวันนั้น ให้จำนวนยอดเพิ่มขึ้น เป็น 4.5 ยอดต่อชิ้นส่วน แต่ความสูงของยอดนั้นลดลงเหลือเพียง 9.4 เซนติเมตร ลักษณะของยอดมีลำต้นที่สมบูรณ์ดี ใบมีสีเขียว ทั้งนี้ชิ้นส่วนจะมีการสร้างรากมากเพิ่มขึ้น (33.2 รากต่อชิ้นส่วน) โดยที่รากนั้นมีความยาวเฉลี่ยลดลง (3.2 เซนติเมตร) ลักษณะของรากมีรากขนาดใหญ่ อวบ มีรากแขนงและขนรากจำนวนมาก และจากการสังเกต พบว่า บริเวณโคนยอดมีลักษณะปมเป็นคล้ายเหง้าเมื่อทำการผ่าดูข้างใน พบว่ามีเนื้อสีเหลือง-ส้ม ที่เกิดจากการสร้างเหง้า และมีร้อยละของการเกิดเหง้าเท่ากับร้อยละ 59.1 ส่วนชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เพิ่มปริมาณน้ำตาลขึ้นเป็น 90 กรัมต่อลิตร นั้น พบว่า มีการสร้าง

ยอดลดลง (4.0 ยอดต่อชิ้นส่วน) แต่ยอดมีความสูงเพิ่มขึ้น (9.9 เซนติเมตร) แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่เติมน้ำตาล 60 กรัมต่อลิตร ลักษณะของยอดมีสีเขียวลำต้นสมบูรณ์ดีและมีการสร้างรากเพิ่มขึ้น (41.8 รากต่อชิ้นส่วน) ลักษณะของรากมีขนาดใหญ่อวบมีรากแขนงและขนรากปริมาณมาก และยังพบว่า สามารถชักนำให้เกิดการสร้างเหง้าจิ๋วได้ดีที่สุด โดยมีร้อยละของการเกิดเหง้าสูงที่สุด คิดเป็นร้อยละ 85 ซึ่งเหง้าจิ๋วดังกล่าวเกิดขึ้นบริเวณโคนยอดซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกับที่พบในชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมน้ำตาล 60 กรัมต่อลิตร (รูป 1) และเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลเป็น 120 กรัมต่อลิตร พบว่า ชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงมีแนวโน้มที่ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนยอด (3.6 ยอดต่อชิ้นส่วน) ความสูงของยอด (4.3 เซนติเมตร) จำนวนราก (31.8 รากต่อชิ้นส่วน) ความยาวราก (1.2 เซนติเมตร) และร้อยละของการเกิดเหง้า (ร้อยละ 47.1) ลดลง และยอดที่เกิดขึ้นมีสีเขียวอมเหลือง กาบใบมีสีน้ำตาลอ่อน ใบห่อม้วนและมีสีเขียวอมเหลืองอ่อน อวบน้ำ รากมีสีน้ำตาลอ่อนและแตกแขนงน้อย มีการสร้างขนรากน้อย ขนรากมีสีเหลืองอ่อน รากอวบและสั้น เมื่อพิจารณาถึงดัชนีการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนยอดที่เลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ พบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารทุกสูตรนั้นมีค่าดัชนีการเจริญเติบโต (Growth index, GI) ที่เพิ่มขึ้นตามปริมาณน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น จาก 30 กรัมต่อลิตร เป็น 60 และ 90 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลเป็น 120 กรัมต่อลิตร พบว่า ดัชนีการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนยอดลดลง และจากผลการทดลองพบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมน้ำตาล 90 กรัมต่อลิตร และวางเลี้ยงภายใต้แสง 8 และ 24 ชั่วโมง จะให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตสูงที่สุด (162.7 และ 161.5 ตามลำดับ) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ตาราง 1 ผลของ น้ำตาล และช่วงแสง ที่มีต่อการชักนำให้เกิดยอด ราก ดัชนีการเจริญเติบโต และการเกิดเหง้าจิ๋ว ของขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์

Light (hrs/day)	Sucrose (g/l)	Shoot no.	Shoot length (cm)	Root no.	Root length (cm)	Growth index (GI)**	% microrhizome
0	30	4.7±0.8^{bc*}	8.5±0.8^{b}	19.0±3.2^{d}	2.9±0.3^{cd}	48.7^{f}	0
	60	5.7±0.8^{ab}	8.9±0.7^{b}	38.4±4.0^{ab}	2.8±0.2^{d}	107.1^{cd}	0
	90	4.3±0.5^{bcd}	10.4±0.6^{b}	43.0±4.8^{ab}	2.7±0.4^{d}	124.1^{bc}	0
	120	3.4±0.5^{cde}	4.2±0.6^{c}	24.4±5.1^{cd}	1.1±0.2^{e}	91.9^{de}	0
8	30	2.3±0.3^{e}	13.1±0.8^{a}	16.7±1.3^{d}	5.8±0.3^{a}	78.6^{e}	0
	60	4.5±0.6^{bc}	9.4±0.7^{b}	33.2±3.8^{bc}	3.2±0.3^{bcd}	110.1^{bcd}	59.1
	90	4.0±0.4^{bcde}	9.9±0.7^{b}	41.8±2.9^{ab}	3.7±0.2^{bc}	162.7^{a}	85.0
	120	3.6±0.6^{cde}	4.3±0.6^{c}	31.8±6.4^{bc}	1.2±0.2^{e}	109.9^{bcd}	47.1

ตาราง 1 (ต่อ) ผลของ น้ำตาล และช่วงแสง ที่มีต่อการชักนำให้เกิดยอด ราก ดัชนีการเจริญเติบโต และการเกิดเหง้าจิ๋ว ของขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์

Light (h/day)	Sucrose (g/l)	Shoot no.	Shoot length (cm)	Root no.	Root length (cm)	Growth index (GI)**	% microrhizome
24	30	2.6 ± 0.3^{de}	12.5 ± 0.9^{a}	18.0 ± 2.5^{d}	5.4 ± 0.4^{a}	94.5^{de}	0
	60	4.3 ± 0.5^{bcd}	9.9 ± 0.7^{b}	32.9 ± 3.2^{bc}	3.8 ± 0.4^{b}	132.9^{b}	0
	90	5.0 ± 0.6^{bc}	9.7 ± 0.4^{b}	43.2 ± 3.1^{ab}	3.6 ± 0.2^{bcd}	161.5^{a}	0
	120	6.6 ± 0.5^{a}	4.9 ± 0.4^{c}	47.6 ± 3.7^{a}	1.3 ± 0.1^{e}	157.8^{a}	0

*ตัวอักษรต่างกันที่อยู่ในสดมภ์เดียวกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test

** ดัชนีการเจริญเติบโต (Growth index, GI) คำนวณได้จาก ผลต่างของน้ำหนักแห้งสุดท้ายกับน้ำหนักแห้งเริ่มต้น หารด้วยน้ำหนักแห้งเริ่มต้น

รูป 1 เหง้าจิ๋วที่ชักนำให้เกิดขึ้นจากชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงขมิ้นชัน ที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมน้ำตาลซูโครส 90 กรัมต่อลิตร เลี้ยงภายใต้ความเข้มแสง 40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 16 สัปดาห์

จากผลการทดลองที่ดีที่สุดที่ได้จากการทดลองข้างต้นนั้น ได้นำมาใช้ในการทดลองต่อมา โดยเลี้ยงชิ้นส่วนต้นของขมิ้นชันบนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติมน้ำตาลความเข้มข้น 90 กรัมต่อลิตร และเติมสารชะลอการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ Paclobutrazol (PAC) Ancymidol (ANC) และ Uniconazole (UCZ) ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงไว้ในที่ให้ได้รับแสง 8

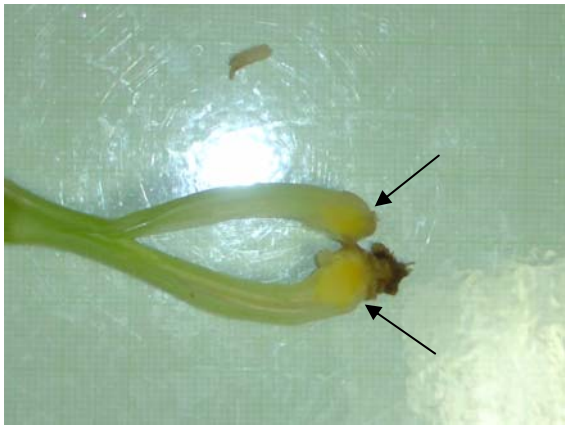
ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารทุกสูตรมีการพัฒนาเกิดยอดและรากใหม่ในระยะเวลาใกล้เคียงกัน แต่พบว่ามีอัตราการเจริญเติบโตที่แตกต่างกัน เมื่อเลี้ยงไปได้ประมาณ 15-20 วัน และเมื่อทำการเลี้ยงชิ้นพืชจนครบ 16 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่ไม่มีการเติมสารชะลอการเจริญเติบโต สามารถชักนำให้ยอดและราก ที่มีความยาวมากที่สุด (12.1 และ 3.7 เซนติเมตร ตามลำดับ) (ตาราง 1) ในขณะที่ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมสารชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 3 ชนิด จะให้ค่าเฉลี่ยความยาวยอดและความยาวรากน้อยกว่าแต่มีค่าเฉลี่ยจำนวนรากมากกว่า และชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม PAC และ ANC ทุกความเข้มข้น จะให้ค่าจำนวนยอดเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม UCZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร นั้น สามารถชักนำให้เกิดเป็นยอดใหม่ได้ดีกว่า (4.8 ยอดต่อชิ้นส่วน) ที่ความเข้มข้น 0.1 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร อีกทั้งสามารถชักนำให้เกิดการสร้างรากใหม่ (44.7 รากต่อชิ้นส่วน) ได้ดีที่สุด ในขณะที่ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม PAC ความเข้มข้น 0.1 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร นั้น สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้สูงที่สุด (5.2 ยอดต่อชิ้นส่วน) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และเมื่อพิจารณาถึงค่าดัชนีการเจริญเติบโต พบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม PAC UCZ และ ANC ที่ทุกความเข้มข้น จะให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตสูงกว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่ไม่มีการเติมสารชะลอการเจริญเติบโตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม PAC ความเข้มข้นต่างๆ ให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโต ไม่แตกต่างกัน ในขณะที่ค่าดัชนีการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม UCZ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ UCZ ซึ่งให้ผลตรงกันข้ามกับค่าดัชนีการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่มีการเติม ANC ซึ่งมีแนวโน้มที่ให้ค่าลดลง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ ANC มากขึ้น และจากการทดลองพบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม PAC ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนมากที่สุด (146.4) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่ไม่มีการเติมสารชะลอการเจริญเติบโต ซึ่งให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนน้อยที่สุด (65.5) และจากการสังเกตการเกิดเหง้าจิ๋วของขมิ้นชันบนอาหารสูตรต่างๆ พบว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่มีการเติม UCZ และ ANC เท่านั้น ที่สามารถชักนำให้เกิดเป็นเหง้าจิ๋วได้ โดยอาหารสูตรที่มีผลทำให้เกิดการชักนำให้เกิดเหง้าสูงที่สุด คือ อาหารสูตรที่มีการเติม UCZ เข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งจะให้ค่าร้อยละของการชักนำให้เกิดเป็นเหง้าใหม่จากชิ้นส่วนเท่ากับร้อยละ 75.8 และอาหารสูตรที่เติม ANC ความเข้มข้น 0.5, 0.1 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ให้ร้อยละของการชักนำให้เกิดเป็นเหง้าจากชิ้นส่วนเท่ากับร้อยละ 50, 31.6 และ 25 ตามลำดับ อีกทั้งไม่พบการสร้างเหง้าจิ๋วจากชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติม PAC และสูตรควบคุมที่ไม่มีการเติมสารชะลอการเจริญเติบโต และเมื่อทำการผ่าชิ้นส่วนบริเวณรอยต่อของโคนต้นกับส่วนรากตอนต้นที่บวมพองออกนั้น จะพบว่า เหง้าจิ๋วที่เกิดขึ้น มีการสะสมสารสีเหลืองอมส้ม (รูป 2)

ตาราง 2 ผลของพาโคลบิวทราโซล ยูนิโคนาโซล และแอนไซมิโดล (0.1, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ต่อการเจริญ การเกิดยอด ราก และการชักนำให้เกิดเหง้าจิ๋ว จากชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงของขมิ้นชัน ที่เลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์

Plant growth retardant (mg/l)		Shoot no.	Shoot length (cm)	Root no.	Root length (cm)	Growth index (GI)**	% Microrhizome induction
No hormone		3.7±0.5^{ab*}	12.1±0.5^{a}	25.7±2.1^{c}	4.1±0.2^{a}	65.5^{e}	0
PAC	0.1	5.2±0.5^{a}	7.4±0.4^{cde}	33.3±3.9^{bc}	2.3±0.2^{de}	115.9^{bcd}	0
	0.5	4.5±0.3^{ab}	7.2±0.3^{de}	31.6±1.9^{bc}	2.4±0.1^{cde}	109.3^{cd}	0
	1.0	5.2±0.4^{a}	7.2±0.5^{de}	30.8±2.3^{bc}	2.7±0.2^{bcd}	113.1^{cd}	0
UCZ	0.1	3.1±0.2^{b}	9.9±0.4^{b}	28.3±1.8^{bc}	3.3±0.2^{b}	118.0^{abcd}	0
	0.5	4.8±0.4^{a}	7.6±0.5^{cd}	44.7±3.0^{a}	2.8±0.2^{bcd}	146.4^{a}	0
	1.0	3.7±0.3^{ab}	9.2±0.5^{bc}	37.7±3.1^{ab}	3.1±0.2^{bc}	142.9^{ab}	75.8
ANC	0.1	5.2±0.6^{a}	6.5±0.6^{de}	34.9±2.5^{abc}	2.7±0.2^{bcd}	129.1^{abc}	31.6
	0.5	5.3±0.6^{a}	7.8±0.8^{cd}	34.3±3.7^{abc}	2.4±0.3^{cde}	128.0^{abcd}	50
	1.0	4.1±0.6^{ab}	5.6±0.7^{e}	26.8±4.2^{bc}	1.8±0.3^{e}	98.4^{d}	25

*ตัวอักษรต่างกันที่อยู่ในสดมภ์เดียวกัน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test

** ดัชนีการเจริญเติบโต (Growth index, GI) คำนวณได้จาก ผลต่างของน้ำหนักแห้งสุดท้ายกับน้ำหนักแห้งเริ่มต้น หารด้วยน้ำหนักแห้งเริ่มต้น



รูป 2 เหง้าจิ๋วที่เกิดขึ้นจากชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงขมิ้นชัน ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ดัดแปลงโดยเติมน้ำตาลซูโครส 90 กรัมต่อลิตร ยูนิโคนาโซล 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงภายใต้ความช่วงแสง 8 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสง 40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 16 สัปดาห์

วิจารณ์ผลการทดลอง

ปัจจัยสำคัญบางประการ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง ได้แก่ ชิ้นส่วนเพาะเลี้ยง อาหาร และแสง เป็นต้น (ประศาสตร์, 2538) สำหรับปัจจัยแสงนั้น มีรายงานการวิจัยหลายฉบับที่กล่าวถึงผลของแสงที่มีต่อการงอกเป็นต้นใหม่ และ/หรือผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาให้กลายเป็นอวัยวะที่จำเพาะ เช่น ส่วนสะสมอาหารต่างๆ ได้แก่ หัว (tuber, bulb และ corm) และ เหง้า (rhizome) เป็นต้น (Hartmann *et al*., 1997; Sharma and Singh 1995 และ Varshney *et al*., 2000) นอกจากนี้ น้ำตาลยังเป็นปัจจัยขององค์ประกอบอาหารที่สำคัญอีกประการหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงในพืชหลายชนิด (Zel *et al*., 1997; Lim *et al*., 1998 และ Bach *et al*., 1992) และรวมไปถึงสารชะลอการเจริญเติบโต (Plant growth retardants) ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาบางประการของพืช (Rademacher, 2000)

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต้นของขมิ้นชัน ที่ชักนำให้เกิดขึ้นจากส่วนตาเหง้า บนอาหารแข็งสูตรดัดแปลง MS 1962 ที่เติมน้ำตาลซูโครส 4 ระดับ คือ 30, 60, 90 และ 120 กรัมต่อลิตร และนำไปเลี้ยงภายใต้สภาวะที่ให้แสง 0, 8 และ 24 ชั่วโมง พบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในที่มืดและที่ให้แสง 8 ชั่วโมงต่อวันนั้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลจาก 30 เป็น 60 กรัมต่อลิตร มีแนวโน้มที่จะชักนำให้เกิดยอดได้ดีขึ้น แต่ที่ความของน้ำตาลเพิ่มขึ้นเป็น 90 และ 120 กรัมต่อลิตร ทำให้การชักนำให้เกิดยอดใหม่มีแนวโน้มลดลง ในขณะที่ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในที่มีแสง 24 ชั่วโมงต่อวัน มีแนวโน้มจะชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำตาล ผลการทดลองดังกล่าวให้ผลในทำนองเดียวกับงานของ Ambrosio และ de Melo (2004) รวมทั้งความสูงยอดที่เกิดขึ้นใหม่จากชิ้นส่วนที่เลี้ยงในที่ให้แสง 8 และ 24 ชั่วโมงต่อวัน มีแนวโน้มลดลง ตามความเข้มข้นของน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในที่มืดนั้น ความสูงของยอดใหม่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลจาก 30 เป็น 60 และ 90 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่ความสูงของยอดใหม่ลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลเป็น 120 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้การเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลยังมีแนวโน้มในการชักนำให้เกิดรากมากขึ้นอีกด้วย ซึ่งจากการทดลองพบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในที่มืดและภายใต้แสง 8 ชั่วโมงต่อวัน สามารถชักนำให้เกิดรากได้มากขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลจาก 30 เป็น 60 และ 90 กรัมต่อลิตรตามลำดับ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลเป็น 120 กรัมต่อลิตร พบว่ามีการสร้างรากลดลง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการทดลองของ Chae และคณะ (2004) ที่รายงานว่า ยอดใหม่ของเบญจมาศสามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลมากขึ้น และจำนวนรากจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลดังกล่าวเพิ่มขึ้นมากเกินไป และเมื่อพิจารณาถึงค่าดัชนีการเจริญเติบโต (Growth index) พบว่าที่ความเข้มข้นของน้ำตาลเพิ่มขึ้นจาก 30 เป็น 90 กรัมต่อลิตร จะทำให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แต่ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลที่มากกว่า 90 กรัมต่อลิตร จะมีผลให้ดัชนีการเจริญเติบโตลดลง ในชิ้นส่วนที่เลี้ยงทั้งในที่มืดและ ที่ให้แสง 8 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งผลการ

ทดลองดังกล่าวให้ผลในทำนองเดียวกับงานของ Angulo และคณะ (2003) นอกจากนี้ผลการทดลองยังพบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในที่ให้แสงเป็นเวลา 8 ชั่วโมงต่อวันเท่านั้นที่สามารถชักนำให้เกิดเหง้าจิ๋วขึ้นได้เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเพิ่มขึ้น โดยเห็นได้ชัดเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมน้ำตาลซูโครส 90 กรัมต่อลิตร และเลี้ยงภายใต้สภาวะที่ให้แสง 8 ชั่วโมงต่อวัน สามารถเกิดเหง้าจิ๋วในหลอดทดลองได้สูงสุดร้อยละ 85 ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานการวิจัยผลของแสงที่มีต่อการชักนำให้เกิดเหง้าจิ๋วในว่านนางคำ (*Curcuma aromatica* Salisb.) (Nayak, 2000) และการชักนำให้เกิด bulblet จากชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงลิลลี่ (Varshney *et al*., 2000) ที่สรุปว่าการเลี้ยงชิ้นส่วนในที่มืดและที่ให้แสงตลอดเวลานั้น มีแนวโน้มในการชักนำให้เกิดการสร้างเหง้าจิ๋วในว่านนางคำและ bulblet ในลิลลี่ลดลง

ปัจจุบันสารชะลอการเจริญเติบโตของพืชถูกนำมาใช้ในทางการเกษตรเพื่อที่จะลดและ/หรือชะลออัตราการเจริญเติบโต รวมทั้งการสร้างผลผลิตที่ดีของพืช โดยทั่วไปแล้วสารชะลอการเจริญเติบโตเกือบทั้งหมดจะมีผลต่อการยับยั้งกระบวนการชีวสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน (GA Biosynthesis) (Rademacher, 2000) สำหรับ Paclobutrazol (PAC), Uniconazole (UCZ) และ Ancymidol (ANC) นั้นจัดเป็นสารชะลอการเจริญเติบโตที่ปัจจุบันถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายทางการเกษตร และได้ถูกนำมาใช้ในกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อวัตถุประสงค์ที่แตกต่างกันออกไป (พีรเดช, 2537) เช่น การชักนำให้เกิดหัวย่อย (cormlet) ของแกลดิโอลัส ในหลอดทดลอง (Ziv, 1989) และการชักนำให้เกิด microtuber ของมันฝรั่ง (Harvey *et al*., 1991) เป็นต้น และจากผลการทดลองเลี้ยงชิ้นส่วนต้นขมิ้นชันบนอาหารที่เติมสารชะลอการเจริญเติบโตในกลุ่ม PAC, UCZ, ANC เปรียบเทียบกับอาหารควบคุมซึ่งเป็นสูตรที่ไม่มีการเติมสารชะลอการเจริญเติบโต พบว่า อาหารสูตรที่เติม PAC และ ANC มีแนวโน้มที่จะทำให้มีอัตราการสร้างยอดมากกว่าสูตรควบคุม ซึ่งให้ผลในทำนองเดียวกับการทดลองของ Ziv (1989) ที่พบว่า ชิ้นส่วนแกลดิโอลัสที่เลี้ยงในอาหารที่เติม PAC และ ANC สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ดีกว่าชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารสูตรที่ไม่เติมสารชะลอการเจริญเติบโตในขณะที่ UCZ นั้นให้ค่าจำนวนยอดใหม่ที่ชักนำให้เกิดขึ้นไม่แตกต่างทางสถิติกับสูตรควบคุม อย่างไรก็ตามชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมสารชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 3 ชนิดนั้น จะให้ค่าความยาวยอดและความยาวรากเฉลี่ยน้อยกว่าสูตรควบคุม ทั้งนี้เนื่องมาจากสารชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 3 ชนิดมีคุณสมบัติในการยับยั้งกระบวนการชีวสังเคราะห์จิบเบอเรลลิน จึงทำให้กระบวนการยืดยาวของเซลล์พืชชะลอหรือหยุดชะงักลง (Rademacher, 2000) เมื่อพิจารณาถึงดัชนีการเจริญเติบโต พบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มีการเติมสารชะลอการเจริญเติบโตทั้ง 3 ชนิด ให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโต (Growth index) สูงกว่าสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ โดยการเพิ่มความเข้มข้นของ ANC มีแนวโน้มจะทำให้ดัชนีการเจริญเติบโตเพิ่มมากขึ้นตามลำดับ ในขณะที่การเพิ่มความเข้มข้น PAC จะให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตไม่สม่ำเสมอคือจะลดลงในช่วงแรกและและเพิ่มขึ้นอีกเมื่อเพิ่มความเข้มข้นสูงขึ้นถึง 1.0 มิลลิกรัมต่อ

ลิตร สำหรับการเพิ่มความเข้มข้นของ UCZ นั้น จะให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตเพิ่มมากขึ้นเช่นเดียวกัน แต่จะมีแนวโน้มลดลงเมื่อมีความเข้มข้นสูงมากกว่า 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งนี้จากการทดลองพบว่าอาหารสูตรที่เติม UCZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตสูงที่สุด ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ziv และ Ariel (1991) และ Ziv และ Shemesh (1996) ที่พบว่าการเติมสารชะลอการเจริญเติบโตกลุ่ม ANC และ PAC ลงในอาหารเพาะเลี้ยงจะทำให้อัตราการสร้างกลุ่มตายอดของพลูฉีก การสร้าง microtuber ของมันฝรั่ง และการสร้างหัวย่อย (cormlet) ของแกลดิโอลัส มีดัชนีการเจริญเติบโตและการสะสมของน้ำหนักแห้งลดลงตามลำดับ และจากผลการทดลองยังพบอีกว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่มีการเติม UCZ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติม ANC 0.1, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดเหง้าจิ๋วขึ้นได้ คิดเป็นร้อยละ 75.8, 31.6, 50 และ 25 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Ziv (1989) และเมื่อทำการผ่าบริเวณเหง้าจิ๋วที่ชักนำให้เกิดขึ้น พบว่า สีของเนื้อเหง้าจิ๋วที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงนี้มีสีเหลืองอมส้ม ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการสร้างสารในกลุ่ม curcumin เหมือนกับเหง้าของขมิ้นชันที่พบขึ้นอยู่ตามธรรมชาติ (Shirgurkar *et al*., 2001)

สรุปผลการทดลอง

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนต้นของขมิ้นชัน เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาและการชักนำให้เกิดเหง้าจิ๋ว บนอาหารสูตรที่เติมน้ำตาลซูโครส และสารชะลอการเจริญเติบโตของพืชที่ความเข้มข้นต่างๆ และเลี้ยงภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 16 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติมน้ำตาลซูโครส 90 กรัมต่อลิตร เลี้ยงภายใต้สภาวะแสง 8 ชั่วโมงต่อวัน มีดัชนีการเจริญเติบโตสูงสุด (163.5) และให้เปอร์เซ็นต์ของการเกิดเหง้าจิ๋วสูงสุด (85 เปอร์เซ็นต์) และชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติมน้ำตาลซูโครส 120 กรัมต่อลิตร และวางเลี้ยงในที่มีแสง 24 ชั่วโมงต่อวัน สามารถชักนำให้เกิดการสร้างยอดและรากเป็นจำนวนมากที่สุด ในขณะที่ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และวางเลี้ยงในที่มีแสง 8 ชั่วโมงต่อวัน ให้ค่าความยาวยอดและรากสูงที่สุด โดยอาหารสูตร MS (1962) ที่เติมน้ำตาลซูโครส 90 กรัมต่อลิตร และ Uniconazole ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และวางเลี้ยงในที่มีแสง 8 ชั่วโมงต่อวัน ให้ค่าดัชนีการเจริญเติบโตสูงสุด (147.4) แต่ไม่มีการสร้างเหง้าจิ๋ว ในขณะที่อาหารสูตรที่เติม Uniconazole ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์ของการเกิดเหง้าจิ๋วสูงสุด (75.7 เปอร์เซ็นต์)

เอกสารอ้างอิง

ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2538. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. พิมพ์ครั้งที่ 2. โอเดียนสโตร์ กรุงเทพ, 158 หน้า.

พีรเดช ทองอำไพ. 2537. ฮอร์โมนพืช : แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 4. วิชัยการพิมพ์ กรุงเทพฯ, 196 หน้า.

ภาณุทรรศน์. 2544. ขมิ้นยอดสมุนไพรโบราณ. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์น้ำฝน กรุงเทพ, 126 หน้า.

Ambrosio, S.T. and N.K. de Melo. 2004. Interaction between Sucrose and pH during *in vitro* Culture of *Nephrolepis Biserrata* (Sw.) Schott (Pteridophyta). *Acta Bot. Bras*. 18(4): 809-813.

Angulo, M.E., R. Colque, F. Viladomat, J. Bastida and C. Codina. 2003. *In vitro* Production of Bulblets of *Cyrtanthus loddigesianus* and *Cyrtanthus speciosus*. *J. Hortic. Sci. and Biotech*. 78(4): 441-446.

Bach, A., B. Pawlowska and K. Pulczynska. 1992. Utilization of Soluble Carbohydrates in Shoot and Bulb Regeneration of *Hyacinthus orientalis* L. *in vitro*. *Acta Hortic*. 325: 487-492.

Chae, W.B., G.W. Choi and I.S. Chung. 2004. Plant Regeneration Depending on Explant Type in *Chrysanthemum coronarium* L. *J. Plant Biotechnol*. 6(4): 253-258.

Hartmann, H.T., D.E. Kester, F.T. Davies Jr. and R.L. Geneve. 1997. *Plant Propagation: Principles and Practices* (6th ed.). New Jersey: Prentice-Hall, Inc.

Harvey, B.M.R., S.H. Crothers, N.E. Evans and C. Selby. 1991. The Use of Growth Retardants to Improve Microtuber Formation by Potato (*Solanum tuberosum*). *Plant Cell Tiss. Org. Cult*. 27: 59-64.

Lim, S., J.H. Seon, K.Y. Paek, S.H. Son and B.H. Han. 1998. Development of Pilot Scale Process for Mass Production of *Lilium* bulblets *in vitro*. *Acta Hortic*. 461: 237-241.

Murashige T. and F. Skoog. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol. Plant*. 15: 473-497.

Nayak, S. 2000. *In vitro* Multiplication and Microrhizome Induction in *Curcuma aromatica* Salisb. *Plant Growth Regul*. 32: 41-47.

Rademacher, W. 2000. Growth Retardants: effects on Gibberellin Biosynthesis and other Metabolic Pathways. Annu. Rev. *Plant Physiol. Mol. Biol*. 51: 501-531.

Sharma, T.R. and B.M. Singh. 1995. *In vitro* Microrhizome Production in *Zingiber officinale* Rosc. *Plant Cell Rep*. 15: 274-277.

Sharma, T. R. and B. M. Singh. 1995. *In vitro* Microrhizome Production in *Zingiber officinale* Rosc. *Plant Cell Rep*. 15(3-4): 274-277.

Shirgurkar, M.V., C.K. John and R. S. Nadgauda. 2001. Factors Affecting *in vitro* Microrhizome Production in Turmeric. *Plant Cell Tiss. Org. Cult*. 64: 5-11.

Steinitz, B., A. Cohen, Z. Goldberg and M. Kochba. 1991. Precocious Gladiolus corm Formation in Liquid Shake Cultures. *Plant Cell Tiss. Org. Cult*. 26: 63-70.

Varshney A., V. Dhawan and P.S. Srivastava. 2000. A Protocol for *in vitro* Mass Propagation of Asiatic Hybrids of Lily Through Liquid Stationary Culture. *In vitro Cell. Dev. Biol*. 36(5): 383-391.

Zel, J., N. Debeljak, R. Ucman and M. Ravinkar. 1997. The Effect of Jasmonic Acid, Sucrose and Darkness on Garlic (*Allium sativum* L. cv. Ptujski Jesenski) Bulb Formation *in vitro*. *In vitro Cell. Dev. Biol*. 33: 231-235.

Ziv, M. 1989. Enhanced Shoot and Cormlet Proliferation in Liquid Cultured Gladiolus Buds by Growth Retardants. *Plant Cell Tiss. Org. Cult*.17: 101-110.

Ziv, M. and T. Ariel. 1991. Bud Proliferation and Plant Regeneration in Liquid-cultured Philodendron Treated with Ancymidol and Paclobutrazol. *J. Plant Growth Regul*. 10: 53-57.

Ziv, M. and D. Shemesh. 1996. Propagation and Tuberization of Potato Bud Clusters from Bioreactor Culture. *In vitro Cell. Dev. Biol*. 32: 31-36.