

การขยายพันธุ์ต้นนางแย้ม (*Clerodendrum chinense* (Osbeck) Mabb.) โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Micropropagation of *Clerodendrum chinense* (Osbeck) Mabb. by Tissue Culture

จณิดา ยงยีน¹ และพัชรี สินุนาวา¹
Yongyuen, T.¹ and Sinthunawa, P.¹

Abstract

Effect of plant growth regulators in MS medium on shoot proliferation and root induction of *Clerodendrum chinense* (Osbeck) Mabb. was investigated. The sterilized shoots were cultured on MS medium supplemented with BA and kinetin at 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg/l and their combinations. The highest number of shoots (6.66 shoots) were found on MS medium supplemented with 2.0 mg/l BA. Rooting was induced on ½ MS, MS supplemented with NAA, IBA concentration 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg/l. Shoots were rooted on all media. The induced root was the greatest with those on MS medium supplemented with 1.0 mg/l NAA (7.16 roots). Plantlets were acclimatized in the pot. Their survival rate was 90 %.

Keywords: *Clerodendrum chinense* (Osbeck) Mabb, shoot proliferation, root induction

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog) ต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นนางแย้ม (*Clerodendrum chinense* (osbeck) Mabb.) โดยนำชิ้นส่วนของปลายยอดมาชักนำให้เกิดยอดในอาหารสูตร MS ที่มี BA (N₆ Benzyl adenine), kinetin หรือ BA ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าอาหารสูตร MS ผสมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำการเกิดยอด (6.66 ยอด) ได้ดีที่สุดในเมื่อนำยอดอ่อนมาชักนำให้เกิดรากด้วยอาหารสูตร MS ที่มี NAA (Naphthaleneacetic acid) และ IBA (Indolebutyric acid) ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า อาหารสูตร MS ที่มี NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดราก (7.16 ราก) ได้ดีที่สุดใน และเมื่อนำต้นอ่อนมาปลูกในกระถางในดิน พบว่า ต้นนางแย้มมีอัตราการรอดชีวิต 90 เปอร์เซ็นต์

คำสำคัญ: ต้นนางแย้ม การชักนำยอด การชักนำราก

คำนำ

นางแย้ม มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Clerodendrum chinense* (Osbeck) Mabb. จัดอยู่ในวงศ์ Verbenaceae เป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก สูงประมาณ 1 เมตร ใบเดี่ยวออกตรงกันข้าม ขอบใบหยักเป็นฟันห่าง ใบใหญ่สีเขียวเข้ม ดอกออกเป็นช่อตามปลายกิ่ง ช่อใหญ่มีดอกย่อยจำนวนมากเรียงอัดกันแน่น กลีบเลี้ยงสีม่วงแดง กลีบดอกสีขาวซ้อนหลายชั้นคล้ายดอกมะลิซ้อน มีกลิ่นหอมมาก ดอกบานอยู่หลายวัน ดอกมีเกสรตัวผู้ 4 ก้าน ส่วนเกสรตัวเมียมี 1 ก้าน เมื่อผลแก่จะแตกออกเป็น 4 ก้าน มีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จีน และ อินเดีย ในประเทศไทยพบกระจายแทบทุกภาคของประเทศ นอกจากนี้ยังพบว่า บางสายพันธุ์ที่อยู่ในสกุลเดียวกัน เช่น *Clerodendrum tricholomum*, *C. bungei*, *C. colebrookianum*, *C. inerme*, *C. phlomidis*, *C. petasites*, *C. grayi*, *C. indicum*, *C. serratum*, *C. cambellii*, *C. calamitosum* และ *C. cryptophllum* สามารถผลิตสารในกลุ่มฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ เทอร์ปีน สเตอรอยด์และน้ำมัน (shrivastava และ Patel, 2007) ในธรรมชาติ นางแย้มติดเมล็ดได้น้อยและการเพาะเมล็ดใช้เวลานานในการงอก ส่วนต้นที่ได้จากการตอนกิ่งหรือปักชำ จะมีการเจริญเติบโตช้า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีที่สามารถขยายพันธุ์ได้จำนวนมากในระยะเวลาน้อย (จณิดา, 2561) ดังนั้นจึงเป็นวิธีการที่ดีที่สุดในการเพิ่มจำนวนต้นอ่อนนางแย้มเพื่ออนุรักษ์สายพันธุ์ของพืชสมุนไพรชนิดนี้

วิธีดำเนินการวิจัย

นำชิ้นส่วนยอดของนางแย้มทมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 20 % เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง แล้วมาชักนำยอดในอาหารตัดแปลงสูตร MS ที่มี kinetin 0.5, 1.0, 1.5, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารตัดแปลงสูตร MS ที่มี BA 0.5, 1.0, 1.5, และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารสูตร MS ที่มี BA ร่วมกับ

¹ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา พระนครศรีอยุธยา 13000

¹ Faculty of Science and Technology, Pranakhon Si Ayutthaya Rajabhat University, Pranakhon Si Ayutthaya 13000

kinetin ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร รวม 12 สูตร ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ขวด จากนั้นจึงนำไปชักนารากโดยแยกยอดที่ชักนำได้มาเพาะเลี้ยงในอาหารตัดแปลงสูตร MS อาหารตัดแปลงสูตร half MS อาหารตัดแปลงสูตร MS ที่มี NAA 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารตัดแปลงสูตร MS ที่มี IBA 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร รวม 12 สูตร ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ขวด นำไปเพาะเลี้ยงในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ ภายใต้อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง ประมาณ 2,000 ลักซ์ เมื่อได้ต้นที่สมบูรณ์แล้วจึงนำไปอนุบาลและลงปลูกในกระถางเพื่อศึกษาอัตราการรอดชีวิต

บันทึกผลโดยนับจำนวนยอดรวมต่อต้น เปรียบเทียบที่ระดับต่าง ๆ และนับจำนวนรากต่อต้น โดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) และเปรียบเทียบความแตกต่างโดยวิธี DMRT (Duncan 's multiple Rang Test)

ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

1. การชักนำยอด

จากการนำชิ้นส่วนของต้นนางแย้มที่ผ่านการพอกฆ่าเชื้อแล้วมาเพิ่มจำนวนยอดในอาหารสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ทุกระดับความเข้มข้นของ BA สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ โดย BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุด คือ 6.66 ยอด รองลงมาคือ สูตรอาหาร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 4.16 ยอด ส่วนสูตรอาหาร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ 3.33 และ 3.50 ยอด ตามลำดับ (Table 1) ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับรายงานของ Nataraj และคณะ (2015) ได้พบว่า สูตรอาหาร MS เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดในการชักนำยอด และจากการทดลองของ Upadhyay และ Koche (2015) ได้ศึกษาเปรียบเทียบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์ของตรีชวา (*Clerodendrum serratum* L.) โดยใช้สูตรอาหาร MS, SH, WPM และ B5 พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำต้นอ่อน คือสูตรอาหาร MS นอกจากนี้ยังได้เปรียบเทียบชนิดของไซโทไคนินในการชักนำยอด ได้แก่ BAP, KIN และ TDZ พบว่า BAP ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำยอดได้ดีที่สุด และการทดลองของ Goyal และคณะ (2010) ได้ชักนำต้นพัดใบ (*Clerodendrum incisum* L.) จากชิ้นส่วนของข้อในสูตรอาหาร MS ที่มี BA หรือ ไคเนทิน เพียงชนิดเดียวในการชักนำยอด พบว่า สูตรอาหาร MS ที่มี BA เข้มข้น 5 ไมโครโมล เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดในการเหนี่ยวนำให้เกิดยอด นอกจากนี้ Vijay และคณะ (2016) พบว่า สูตรอาหาร MS ที่มี BA เข้มข้น 6.66 ไมโครโมล สามารถชักนำยอดได้ดีที่สุด และจากการทดลองของ ยาวพา และ ขวัญจิตต์ (2552) ได้พบว่าสูตรอาหาร MS ที่มี BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มจำนวนยอดได้ดีที่สุดเช่นเดียวกัน จากผลการทดลองพบว่า สูตรอาหารที่มีไซโทไคนินชนิดเดียว สามารถชักนำยอดได้ดีกว่าสูตรอาหารที่มีไซโทไคนินหลายชนิดร่วมกัน อาจเนื่องมาจากไซโทไคนินเกี่ยวข้องกับการแบ่งเซลล์ของพืช กระตุ้นการแตกตาข้างจึงสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ดี (ธนิดา, 2561)

2. การชักนาราก

เมื่อแยกยอดที่ชักนำได้มาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร half MS สูตรอาหาร MS และสูตรอาหาร MS ที่มี NAA 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สูตรอาหาร MS ที่มี IAA 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ทุกสูตรอาหารสามารถชักนำให้เกิดรากของต้นนางแย้มได้ทุกสูตร ซึ่งสูตรอาหาร MS ที่มี NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุด คือ 7.16 ราก (Table 2) สอดคล้องกับการทดลองของ Vidya และคณะ (2012) ทำการขยายพันธุ์ต้นตรีชวา (*Clerodendrum serratum* L.) พบว่า สูตรอาหารที่มี NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนารากได้ดีที่สุดและรากที่ชักนำได้มีความยาวและสมบูรณ์มากกว่าสูตรอื่น ๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้วจึงนำไปอนุบาลและลงปลูกในกระถาง พบว่า ต้นอ่อนมีชีวิตรอด 90 เปอร์เซ็นต์ และต้นที่ได้มีลักษณะสมบูรณ์

สรุปผลการทดลอง

สูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำยอด คือ สูตรอาหาร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยสามารถชักนำยอดได้ 6.66 ยอดและสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนาราก คือ สูตรอาหาร MS ที่มี NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยสามารถชักนารากได้ 7.16 ราก

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ที่ให้ทุนสนับสนุนและขอขอบพระคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยาที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- ชนิตา ยงยีน, 2561, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช, พิมพ์ครั้งที่ 2, บริษัท โอ. เอส. พรินติ้ง เฮ้าส์ จำกัด, กรุงเทพฯ, 174 หน้า.
- เยาวพา จิระเกียรติกุล และ ขวัญจิตต์ บุญหา, 2552, การเพิ่มจำนวนต้นและชักนำให้เกิดรากในสภาพปลอดเชื้อของต้นสร้อยสายเพชร (*Clerodendrum wallichii*), วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 17(3) : 61-67.
- Goyal, S., Shahzad, A., Anis, M. and Khan, S., 2010, Multiple Shoot Regeneration in *Clerodendrum incisum* L. – An Ornamental Woody Shrub, Pakistan Journal of Botany, 42(2): 873-878.
- Nataraj, M., Kher, M.M. and Teixeira da Silva, J.A., 2015, Micropropagation of *Clerodendrum* L. species: A Review, Rendiconti Lincei SCIENZE FISICHE E NATURALI, 27(2) : 169-179.
- Shrivastava, N. and Patal, T., 2007, *Clerodendrum* and Healthcare : An Overview-Part II Phytochemistry and Biotechnology, Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology, 1(2) : 209-233.
- Upadhyay, S. and Koche, V., 2015, Comparison of Different Medium and Establishment of An Efficient Micropropagation Technique of *Clerodendrum serratum* L.: An Endangered Medicinal Plant, IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT), 1(2) : 27-35.
- Vijay, R., Shukla, J. and Saxena, R., 2016, *In Vitro* Effect of Various Plant Growth Promoters on *Clerodendrum serratum*, International Journal of Pure Applied Bioscience, 4 (6) : 186-192.
- Vidya, S.M., Krishna, V., Manjunatha, B.K. and Pradeepa, M.R., 2012, Micropropagation of *Clerodendrum serratum* L. Through Direct and Indirect Organogenesis, Plant Tissue Culture and Biotechnology, 22(2) : 179-185.

Table 1 Shoot multiplication cultured on MS supplemented with BA, Kinetin and their combination after 6 weeks

Medium	Shoots/explant
MS + BA 0.5 mg/l	3.33 ^{b1}
MS + BA 1.0 mg/l	3.50 ^b
MS + BA 1.5 mg/l	4.16 ^b
MS + BA 2.0 mg/l	6.66 ^a
MS + kinetin 0.5 mg/l	2.00 ^c
MS + kinetin 1.0 mg/l	2.30 ^c
MS + kinetin 1.5 mg/l	3.60 ^b
MS + kinetin 2.0 mg/l	2.60 ^c
MS + kinetin 0.5 mg/l + BA 0.5 mg/l	1.50 ^d
MS + kinetin 1.0 mg/l + BA 1.0 mg/l	1.82 ^c
MS + kinetin 1.5 mg/l + BA 1.5 mg/l	1.33 ^d
MS + kinetin 2.0 mg/l + BA 2.0 mg/l	1.00 ^d
F-test	*
CV.(%)	1.65

*significant difference at $P \leq 0.05$

¹ means followed by the same letter within column are not significant difference by DMRT

Table 2 Root induction cultured on ½ MS, MS, MS supplemented with NAA and IBA after 6 weeks

Medium	Roots/shoot
½ MS	4.00 ^{b1}
MS	4.50 ^b
MS + NAA 0.5 mg/l	5.00 ^b
MS + NAA 1.0 mg/l	7.16 ^a
MS + NAA 1.5 mg/l	3.80 ^b
MS + NAA 2.0 mg/l	3.00 ^c
MS + IBA 0.5 mg/l	4.00 ^b
MS + IBA 1.0 mg/l	3.85 ^b
MS + IBA 1.5 mg/l	3.35 ^c
MS + IBA 2.0 mg/l	2.83 ^c
F-test	*
CV. (%)	1.61

*significant difference at $P \leq 0.05$

¹means followed by the same letter within column are not significant difference by DMRT