การอนุรักษ์ดองดึงโดยวิธีการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ
Conservation of Gloriosa lily (*Gloriosa superba* L.) by Slow Growth Technique

สุพินญา บุญมานพ[1]
Bunmanop, S.[1]

Abstract

Gloriosa superba L. is a native plant of Asia listed in the family Liliaceae. Its rhizome contains many kinds of alkaloids: Colchicine, which is popularly applied in medical and agricultural use. Since a number of plants are taken from natural habitat, the population of *G. superba* L. is decreasing, therefore, it is vulnerable to extinction. The International Union for Conservation of Nature (IUCN) places *G. superba* L. in IUCN Red List of Threatened Species. This research aims to study the conservation of *G. superba* L. by slow growth under *in vitro* culture. The findings indicated that *in vitro* propagation of *G. superba* L. can be done by culturing apical meristem in MS + NAA 4 mg/l + BA 4 mg/l. It was statistically significant that when cultured in ½ MS + Mannitol 20 g/l without subculturing, rhizome can be preserved for up to 9 months by using slow growth storage.

Keywords: *Gloriosa superba* L., slow growth storage, *in vitro*

บทคัดย่อ

ดองดึง (*Gloriosa superba* L.) อยู่ในวงศ์ Liliaceae เป็นไม้พื้นบ้านในแถบเอเชีย เหง้าดองดึงมีสารอัลคาลอยด์หลายชนิด ได้แก่ โคลชิซิน (colchicine) จึงเป็นที่ต้องการเนื่องจากถูกนำมาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ และในทางการเกษตร ทำให้ปริมาณที่มีในธรรมชาติลดน้อยลง จึงเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ และทาง IUCN จัดดองดึงให้อยู่ในบัญชีแดง (red list) ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาวิธีการอนุรักษ์ดองดึงโดยวิธีการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า การขยายปริมาณเหง้าของดองดึงในสภาพปลอดเชื้อสามารถทำได้โดยใช้ชิ้นส่วนของยอดดองดึงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS + NAA 4 mg/l +BA 4 mg/l และการเก็บรักษาเหง้าดองดึงในสภาพปลอดเชื้อ (การชะลอการเจริญเติบโต) สามารถเก็บรักษาได้นานสูงสุด 9 เดือนอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ แม้ไม่มีการ subculture เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ ½ MS + Manitol 20 g/l ในสภาพปลอดเชื้อ

คำสำคัญ: ดองดึง การชะลอการเจริญเติบโต สภาพปลอดเชื้อ

คำนำ

ดองดึง *Gloriosa superba* L. เป็นพืชสมุนไพรที่สำคัญชนิดหนึ่งและจัดอยู่ในแพทย์แผนโบราณของไทย ชื่อเรียกพื้นบ้านของประเทศไทย เช่น พันมหา หัวขวาน ว่านก้ามปู มะขาโก้ง (เสงี่ยม, 2522) ชื่อสามัญ Glory lily, Climbing lily, Superb lily, Turk's cap, Flame lily หรือ Gloriosa lily อยู่ในวงศ์ Liliaceae (สมสุข, 2541) มีถิ่นกำเนิดอยู่ในป่าของทวีปแอฟริกา มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *G. rothchildiana* ในทวีปเอเชีย เช่น ประเทศอินเดีย ศรีลังกา ฟิลิปปินส์ มาเลเซีย และประเทศแถบอินโดจีน พบเพียงชนิดเดียว คือ *G. superba* L. จัดเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีหัว/เหง้าอยู่ใต้ดิน (rhizome) เป็นไม้พื้นบ้านในแถบเอเชีย ความหลากหลายของดองดึงสามารถพบได้ทั่วไปตามธรรมชาติในประเทศไทย โดยเฉพาะแถบชายทะเลจะพบมากกว่าแหล่งอื่นๆ (ภาคตะวันออก และภาคใต้ของประเทศไทย) (ศุภฤกษ์ และคณะ, 2545) ดังแสดงในภาพที่ 1 ทั้งนี้ดองดึงจัดเป็นพืชล้มลุกประเภทไม้เลื้อย มีอายุหลายปี (หลายฤดู) ดอกดองดึง มีสีสันสวยงาม เด่น สะดุดตา และดอกทยอยบานจากล่างขึ้นสู่ยอด ช่วงการออกดอกใช้เวลาประมาณ 2-3 เดือน จากคุณสมบัติดังกล่าว จึงถูกจัดเป็นไม้ดอกไม้ประดับได้ไม่แพ้ไม้ดอกชนิดอื่นๆ และจัดเป็นพืชสมุนไพรที่ส่วนต่างๆ สามารถรักษาโรคได้หลายชนิด เนื่องจากในเมล็ด และเหง้าดองดึงมีสารอัลคาลอยด์หลายชนิด ชนิดที่พบว่ามีปริมาณมาก ได้แก่ โคลชิซิน (colchicine) ที่ได้จากส่วนของเมล็ดใช้รักษาโรคไขข้ออักเสบ โรคมะเร็ง (กรมวิชาการเกษตร, 2542) ทางด้านการเกษตรใช้โคลชิซินในการปรับปรุงพันธุ์พืช เพราะมีคุณสมบัติในการกระตุ้นเซลพืชให้เกิดโพลีพลอย์ (polyploid)

[1] กลุ่มวิจัยพัฒนาธนาคารเชื้อพันธุ์พืชและจุลินทรีย์ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900
[1] Genebank Research and Development Group, Biotechnology Research and Development Office, Department of Agriculture (DOA), Bangkok, 10900, Thailand

(Eigsti และคณะ, 1949; Bunyapraphatsaya, 1991) การขยายพันธุ์ของดองดึงมี 2 วิธี คือ เมล็ด และเหง้า ซึ่งการติดเมล็ดต่อต้นค่อนข้างน้อย และจุดเจริญของเหง้ามี2จุด (ภาพที่ 2) ซึ่งการเกิดต้นใหม่ของดองดึงจะใช้อาหารจากเหง้าเก่าเพื่อเกิดต้นใหม่ (ภาพที่ 3) เนื่องจากถูกนำมาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ และในทางการเกษตร ทำให้ปริมาณที่มีในธรรมชาติลดน้อยลง อีกทั้งพื้นที่มีการเปลี่ยนแปลงตามความต้องการของเจ้าของสถานที่ และความเจริญของสังคม จึงเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์และได้ถูกจัดเข้าอยู่ในบัญชีแดง (red list) ของ International Union for Conservation of Nature (IUCN) (IUCN, 1980) ในการลดการเจริญเติบโตของพืชในสภาพปลอดเชื้อมีหลายวิธีการ เช่น การลดปริมาณสารอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Lersrutaiyotin et al, 1993) และการใส่สารลดการเจริญเติบโต ได้แก่ mannitol ที่มีผลต่อ osmotic pressure ของพืช ส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการดูดซึมสารอาหารของชิ้นเนื้อเยื่อ (Mix, 1982) ทั้งนี้ สนธิชัย (2548) พบว่า การใช้สูตรอาหาร MS + sucrose 40-60 g/l หรือ sucrose 30 g/l + Mannitol 30 g/l หรือสูตรอาหาร ½ MS + Sucrose 40-50 g/l หรือ Sucrose 30 g/l + Mannitol 30-40 g/l สามารถชะลอการเจริญเติบโตได้โดยเพาะเลี้ยงในอาหารเดิมได้นานอย่างน้อย 8 เดือน และวรินทร์พร ศึกษาการเก็บรักษาเนระพูสีไทยในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า สามารถเก็บรักษาได้นาน 9 เดือน บนสูตรอาหาร ½ MS + Sucrose 90 g/l และการเก็บรักษาพันธุ์หอมน้ำไทยในสภาพปลอดเชื้อสามารถเก็บได้นาน 8 เดือน บนสูตรอาหาร ½ MS + Sucrose 30 g/l + Mannitol 10 g/l (วรรณดา และคณะ, 2557) ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาวิธีการอนุรักษ์ดองดึงโดยวิธีการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ

อุปกรณ์และวิธีการ

การขยายพันธุ์ดองดึงในสภาพปลอดเชื้อ นำชิ้นส่วนยอด/ใบ/ข้อ ของดองดึงที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้ว (นำส่วนของยอดดองดึงมาล้างด้วยน้ำประปาให้สะอาด จากนั้นนำเข้าตู้ปลอดเชื้อทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยน้ำยาคลอรอกซ์ 10% และ 5% ตามลำดับ ครั้งละประมาณ 15 นาที โดยเติมสารลดความตึงผิว เช่น tween 20 จำนวน 2-3หยดขณะฟอกฆ่าเชื้อ แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้งๆ ประมาณ 1 นาที นำชิ้นส่วนที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้ว (ยอด ใบ และข้อ) มาเลี้ยงลงบนสูตรอาหารสังเคราะห์ Murashige and Skoog Medium (MS)MS ร่วมกับการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน α-napthalene acetic acied (NAA)(NAA) ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 4 mg/l ร่วมกับกลุ่มไซโตไคนิน 6-benzyladenine (BA)(BA) 4 mg/l เพื่อชักนำการเกิดต้น หลังจากนั้นนำเหง้าดองดึงที่ได้จากการขยายในสภาพปลอดเชื้อมาทดสอบสูตรอาหารเพื่อชะลอการเจริญเติบโตของพืช (slow growth) โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) 9 ทรีตเม้นต์ๆ ละ 15 ซ้ำนำไปเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ควบคุมอุณหภูมิประมาณ 25-27°C ความเข้มแสงประมาณ 1,000-2,000 ลักซ์ เป็นเวลาประมาณ 8 ชั่วโมงประกอบด้วย MS (control), MS + 10 g/l, MS + 20 g/l, ½ MS, ½ MS + 10 g/l, ½ MS + 20 g/l, ¼ MS, ¼ MS + 10 g/l, ¼ MS + 20 g/lสิ้นสุดการเก็บรักษาเมื่อเหง้าดองดึงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเกินกว่า 50% ของจำนวนตัวอย่าง

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า ส่วนยอดดองดึงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS + NAA 4 mg/l +BA 4 mg/l สามารถเจริญเติบโตทางใบได้และเกิดเหง้าได้มาก (ภาพที่ 4) (การนำชิ้นส่วนของดองดึงที่ฟอกฆ่าเชื้อ คือ ยอด ใบ และข้อ ยอดมีเปอร์เซ็นต์การรอด 100 % ขณะที่ ข้อและใบ มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 0%) แต่การเจริญเติบโตใช้ระยะเวลานานเช่นเดียวกับการเจริญเติบโตในธรรมชาติ (Krause, 1986) และการเก็บรักษาเหง้าดองดึงในสภาพปลอดเชื้อ (การชะลอการเจริญเติบโต) สามารถเก็บรักษาได้นานสูงสุด 9 เดือนอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ภาพที่ 5และตารางที่ 1) เมื่อเปรียบเทียบกับทรีทเมนต์อื่นๆ ที่มีการเก็บรักษาที่อายุ 6-7½เดือน ส่วน control (ทรีทเมนต์ที่ 1) สามารถเก็บรักษาได้นาน 7 เดือนเช่นกัน แม้ไม่มีการเปลี่ยนถ่ายอาหาร (subculture) เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ ½ MS + Mannitol 20 g/l ในสภาพปลอดเชื้อ เป็นการลดปริมาณธาตุอาหารในอาหารสังเคราะห์ซึ่งเป็นธาตุอาหารหลัก และ Mannitol มีผลเกี่ยวกับแรงดันออสโมซิสในอาหาร แต่ระดับความเข้มข้นที่สูงเกินไปอาจเป็นอันตรายต่อพืชได้ Skalova et al (2012) ศึกษาการเจริญเติบโตของบัวหิมะ (*Smallanthus sonchifolius*) พบว่า การเพาะเลี้ยงบัวหิมะในอาหารสูตร ½ MS + Mannitol หรือ Sobitol ความเข้มข้น 10 หรือ 20 g/l ในระยะเวลา 60 วันมีการเจริญเติบโตที่ที่ลดลง และรมณีย์ และศาลักษณ์ (2547) ศึกษาพบว่า สามารถเก็บรักษาพันธุ์เจตมูลเพลิงแดงในสภาพปลอดเชื้อได้นาน 8 เดือนในอาหาร MS + Mannitol 20 m/l สอดคล้องกับการทดลองของสนธิชัย (2548) ในการเก็บรักษาพืชวงศ์ขิง (ขิงไพล และขมิ้นอ้อย) ได้นาน 8 เดือนบนอาหารสูตรสังเคราะห์ MS ร่วมกับ mannitol (30-40 g/l)

สรุปผล

การขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อสามารถใช้ส่วนของยอดซึ่งขยายเหง้าได้เป็นจำนวนมากในสูตรอาหาร MS + NAA 4

mg/l +BA 4 mg/l และการอนุรักษ์เหง้าดองดึงโดยวิธีการชะลอการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ สามสามารถเก็บรักษาเหง้าได้นาน 9 เดือน แม้ไม่มีการเปลี่ยนถ่ายอาหาร เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ ½ MS + Manitol 20 g/l ในสภาพปลอดเชื้อ

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงานจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโยชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร และขอขอบคุณ คุณสิริพันธุ์ ศรีจักรวาฬ คุณปราโมทย์ เกิดศิริ คุณจิราพรรณ แพกำเนิด คุณชาญวุฒิ วิถี และคุณขวัญฤทัย วังสุริย์ ที่ได้ช่วยเหลือให้งานวิจัยลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร, 2542, ดองดึง (*Gloriosa superb* Linn.) ไม้ดอกสารพัดประโยชน์, กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช, กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ, 30 หน้า.

รมณีย์ เจริญทรัพย์ และ ศาลักษณ์ พรรรณศิริ, 2547, การเก็บรักษาพันธุ์เจตมูลเพลิงแดงในสภาพปลอดเชื้อ : ผลของ mannitol ต่อการเจริญของเนื้อเยื่อที่เก็บรักษา, **ใน :** เรื่องเต็มการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42: สาขาพืช วันที่ 3-6 กุมภาพันธ์ 2547 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 553-559.

วรรณดา พิพัฒน์เจริญชัย กาญจนรี พงษ์ฉวี และรัฐภัทร์ ประดิษฐ์สรรพ์, 2557, การเก็บรักษาพันธุ์หอมน้ำ *Crinum thaianum* Schulze ในสภาพปลอดเชื้อ, สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและพรรณไม้น้ำ, สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง, 34 หน้า.

ศุภฤกษ์ กุลปภังกร ประพฤติ พรหมสมบูรณ์ บัวทิพย์ อุบลประเสริฐ สุธัญญา พรหมสมบูรณ์ อัมรัตน์ โกมลมาศ อนุสสรณ์ วิเศษสิงห์ ทรงศักดิ์ จันทร์อุดม และ นันทพร พึ่งสังวร, 2545, การศึกษาความหลากหลายและการอนุรักษ์สายพันธุ์ดองดึง ในภาคตะวันออกของประเทศไทย, คณะเกษตรศาสตร์บางพระ, สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล, ชลบุรี, 107 หน้า.

สนธิชัย จันทร์เปรม, 2548, การเก็บรักษาพืชวงศ์ขิงบางชนิดโดยการลดการเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ, การประชุมวิชาการทรัพยากรไทย: สรรพสิ่งล้วนพันเกี่ยว (ภาคโปสเตอร์), 384-389.

สมสุข ศรีจักรวาล และ ปราโมทย์ เกิดศิริ, 2541, การพัฒนาของดอกดองดึงเมื่อปลูกในช่วงเวลาต่าง ๆ, วารสารวิชาการเกษตร, 16 (1): 42-48.

เสงี่ยม พงษ์บุญรอด, 2522, ไม้เทศเมืองไทย สรรพคุณของยาเทศและยาไทย, เกษมบรรณกิจ, กรุงเทพฯ, 596 หน้า.

Bunyapraphatsara, N., S. Khongchuensin, C. Sagwansupayakorn, C. Sakulmeerit, T. Tipayasak and Y. Sri-ngen-ngaam, 1991, Colchicine content of the seeds of *Gloriosa superba* L. Cultivated in Thailand, pp. 126-134. *In* J.M. Pezzuto, A.D. Kingkorn, H.H. S. Fong, and G.A. Cordell (eds.), Progress on terrestrial and marine natural products of medicinal and biological interest, American Botanical Council, Chicago.

Eigsti, O.J., Jr., Dustin and G.M., Grosvenor, 1949, On the Discovery of the Action of Colchicines on Mitosis, Science 110: 692.

IUCN, 1980, The Word Conservation Strategy, IUCN, Gland, Switzerland, 77p.

Krause, J., 1986, Production of *Gloriosa* tubers from Seeds, Acta Horticulturae, 177: 353-360.

Lersrutaiyotin, R.., Chit-areerat, P. and Vissessuwan, R., 1993, *In Vitro* Preservation of Sugarcane Plantlets Under Low Temperature, Kasetsart Journal (Nat.Sci.) 27: 9-11.

Mix, G., 1982. *In Vitro* Preservation of Potato Material, Plant Genetic Research Newsletter, 51: 6-6.

Figure 1 *G. superba* L. at the nature seaside in the south of Thailand.

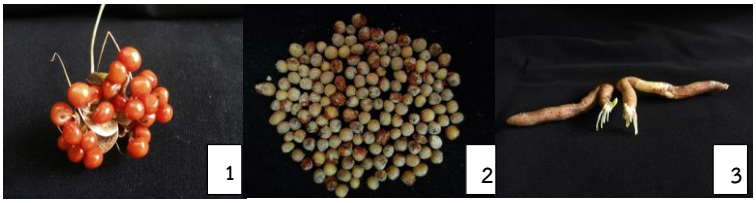

Figure 2 Ripe fruit (1), seed (2) and rhizome (3) of *G. superba* L.

Figure 3 *G. superba* L. growth from rhizomes

Figure 4 *G. superba* L. in sterile condition

MS full-strength+Mannitol (0, 10, 20g/L) MS half-strength+Mannitol (0, 10, 20g/L) MS one-fourth strength+Mannitol (0,10, 20g/L)

Figure 5 *G. superba* L. rhizomes *in vitro* cultured for 9 months.rhizomes *in vitro* cultured for 9 months

Table 1 Average storage period for the rhizomes of *G. superba* L. at 50% of browing color.

Treatment	Mannitol (g/l)	Average storage period (months)Average storage period (months)
1. MS full-strength	0	7.22 d
2. MS full-strength	10	7.24 d
3. MS full-strength	20	7.20 d
4. MS half-strength	0	7.20 d
5. MS half-strength	10	7.53 bc
6. MS half-strength	20	9.10 a
7. MS one fourth-strength	0	6.61 e
8. MS one fourth-strength	10	7.34 cd
9. MS one fourth-strength	20	7.58 b
CV (%)		3.70

Mean values within the column followed by the same lette in superscript are not significantly different at P<0.05 level