ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแก้วสารพัดนึก (*Alocasia sanderiana* W. Bull.)
Effects of Plant Growth Regulator on Tissue Culture of *Alocasia sanderiana* W. Bull.

วัลยา มงคลสวัสดิ์[1] ทัศนัย ปัญจันทร์สิงห์[1] มานิต นรบัติ[2] พลอยทิพย์ เวียงสมุทร[2] และสุกัญญา ทองเพ็ญ[2]
Mongkolsawat, W.[1], Punjansing, T[1], Norabat, M.[2], Vaingsamoot, P.[2] and Thongphen, S.[2]

Abstract

The effect of plant-growth-regulators (PGR) on growth of *Alocasia sanderiana* W. Bull. microshoots cultured on MS (Murashige and Skoog, 1962) and supplemented with various concentrations (0, 1, 2, 4 and 8 mg/l) of cytokinin (BAP and Kinetin), and with a combination of BAP (1, 2 mg/l) with NAA (0.5, 1 mg/l) for 6 weeks. Multiple shoots were cultured on MS medium supplemented with 2 mg/l BAP with 1 mg/l NAA which it could produce the highest number of shoots per explant of 8.20 cm. MS medium without PGR had the highest shoot length at 4.80 cm and root length at 5.78 cm, whereas MS medium supplemented with 1 and 2 mg/l kinetin had the highest root number at 8.20 and 8.40 roots per shoot, respectively. The highest lengths of leaves, 3.80 leaves per explant, were obtained on the MS medium supplemented with 1 mg/l BAP with 0.5 mg/l NAA.

Keywords: Plant tissue culture, Plant growth regulators, Propagation, *Alocasia sanderiana* W. Bull

บทคัดย่อ

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญของแก้วสารพัดนึก (*Alocasia sanderiana* W. Bull) โดยเพาะเลี้ยงต้นอ่อนบนอาหารสูตร MS (Murashige และ Skoog, 1962) ที่เติมฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนิน (BAP และ Kinetin) ความเข้มข้น 0, 1, 2, 4 และ 8 มก./ล. และBAP ความเข้มข้น 1 และ 2 มก./ล. ร่วมกับฮอร์โมนออกซิน (NAA) 0.5 และ 1 มก./ล. เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า สูตรอาหาร MS ที่เติม BAP 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล. สามารถชักนำให้เพิ่มจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 8.20 ยอดต่อต้น สูตรอาหารสังเคราะห์ MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำให้ความสูงเฉลี่ยสูงสุด 4.80 ซม. และสามารถชักนำความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 5.78 ซม. ในขณะที่สูตรอาหาร MS ที่เติม Kinetin 1 และ 2 มก./ล. สามารถชักนำให้เพิ่มจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 8.20 และ 8.40 รากต่อต้น ตามลำดับ และสูตรอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติม BAP 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล สามารถชักนำให้จำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด 3.80 ใบต่อต้น

คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การขยายพันธุ์ แก้วสารพัดนึก

คำนำ

แก้วสารพัดนึก จัดเป็นไม้ใบและต้นไม้มงคล มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Alocasia sanderiana* Bull. จัดอยู่ในวงศ์ Araceae เป็นไม้ประดับในเขตร้อนที่มีถิ่นกำเนิดแถบประเทศอินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ศรีลังกา มาเลเซีย และประเทศไทย (เทวฤทธิ์ และคณะ, 2541) สามารถสูงได้ถึง 2 เมตร ใบมีลักษณะเป็นแผ่นรูปหัวใจ แฉกลึก แผ่นใบด้านบนมีสีเขียวเข้ม มันวาว ขอบและเส้นใบมีสีเขียวอมเทา ใต้ใบสีม่วงแดง เส้นกลางใบเป็นร่องตื้น สีขาว ก้านใบสีน้ำตาลอมเขียว จากรูปร่างลักษณะของต้นและเป็นพันธุ์ไม้มงคล ทำให้ได้รับความนิยมและเป็นที่ต้องการของตลาดเป็นอย่างมาก ทำให้แก้วสารพัดนึกมีจำนวนลดลง รวมทั้งจัดเป็นพันธุ์ไม้หายากขึ้นบัญชีแดงของ IUCN ว่าเป็นพันธุ์ไม้ที่มีความเสี่ยงขั้นวิกฤตต่อการสูญพันธุ์ (CR-Critically endangered) (Medecilo และคณะ, 2008) นอกจากนี้ในบางพื้นที่สภาพอากาศยังไม่เอื้ออำนวยต่อการปลูก และเกษตรกรผู้ปลูกขาดข้อมูลและความรู้เกี่ยวกับการขยายพันธุ์ด้วยเทคโนโลยีที่ทันสมัย เพื่อให้ได้จำนวนมาก มีความสม่ำเสมอ ปลอดโรค และแมลง หากต้องการเพิ่มปริมาณให้เพียงพอและรองรับการขยายตลาดสู่ในอนาคต การขยายพันธุ์โดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะแก้ไขปัญหาดังกล่าวได้ การขยายพันธุ์พืชวงศ์บอนในสภาพปลอดเชื้อจำเป็นต้องใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เช่น ออกซิน และ ไซ

[1] สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี ศูนย์การศึกษาสามพร้าว 234/3 หมู่ 12 ต.สามพร้าว อ.เมือง จ.อุดรธานี 41000
[1] Department of Biology, Faculty of Science, Udon Thani Rajabhat University SamPhrao Campus, 234/3 Moo 12 Tombon SamPhrao Muang, Udon Thani 41000
[2] คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี 64 ถนนทหาร ตำบลหมากแข้ง อำเภอเมือง จังหวัดอุดรธานี 41000
[2] Faculty of Education, Udon Thani Rajabhat University, 64 Tahan Road, Muang, Udon Thani 41000

โทไคนิน ในอัตราส่วนที่เหมาะสมเพื่อชักนำให้เกิดการสร้างแคลลัสและต้นต่อไป ดังรายงานของเทวฤทธิ์และคณะ (2541) ศึกษาการเพาะเลี้ยงแก้วหน้าม้าทะเลบัน (*Alocasia lobbianum*) พบว่า ตายอดและตาข้างเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BAP 8.0 มก./ล. สามารถเพิ่มปริมาณยอดได้มากที่สุด การเพิ่มปริมาณต้นบอนสี (*Caladium humboldtii*) พบว่าเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 8.88 ไมโครโมล (Thepsitharc และคณะ, 2011) รายงานการชักนำให้เกิดต้นใหม่จากการเพาะเลี้ยง *Caladium* พบว่าการเติม BA ร่วมกับ NAA สามารถชักนำให้เกิดต้นใหม่จำนวนมาก (Ahmed และคณะ, 2004) และการเพาะเลี้ยงพืชสกุล *Alocasia* 5 สายพันธุ์ คือ *A. amazonica, A. cuprea, A. robusta, A. longiloba* และ *A. chaii* พบว่าอาหารสูตรที่ชักนำให้เกิดหน่อดีที่สุดคือ สูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 มก./ล. (Bhatt และคณะ, 2013) การเพิ่มประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดต้นจำนวนมากในพืชวงศ์บอนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องอาศัยบทบาทของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโทไคนินและออกซินที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม (Bunnag, 2017) ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาผลของไซโตไคนินและออกซินต่อการเกิดยอดและรากของแก้วสารพัดนึกในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อเป็นการเพิ่มจำนวนและการอนุรักษ์พืชต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

การเพาะเลี้ยงตาข้าง

นำตาข้างที่สมบูรณ์ ล้างให้สะอาดตัดส่วนที่ไม่ต้องการออกเปิดน้ำไหลผ่านประมาณ 1 ชั่วโมง แช่ในสารละลายคลอร็อกซ์เข้มข้น 15 และ 10 เปอร์เซ็นต์ เติม Tween-20 ในอัตราส่วน 1 หยด ต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตร เพื่อช่วยให้สารละลายจับกับผิวตัวอย่างได้ดี เขย่าเป็นระยะๆ เป็นเวลานาน 10 นาที ล้างเอาสารละลายออกด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที นำชิ้นส่วนตาข้างที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาเพาะบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เป็นระยะเวลานาน 4 สัปดาห์ โดยนำไปเลี้ยงไว้ที่ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อควบคุมอุณหภูมิ 25±2 °C ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสง 3,500 ลักซ์

ศึกษาผลของ BAP, Kinetin และ BAP ร่วมกับ NAA บนอาหารสังเคราะห์ MS (Murashige และ Skoog, 1962) ต่อการเจริญเติบโตต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนแก้วสารพัดนึก วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ประกอบด้วย 13 ทรีทเมนท์ๆ ละ 10 ซ้ำ ต้นอ่อนที่มีขนาด 1-1.5 มิลลิเมตรบนสูตรอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติม BAP, Kinetin ความเข้มข้น 0, 1, 2, 4 และ 8 มก./ล. และ MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 และ 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5, 1 มก./ล. เติมน้ำตาล 30 ก./ล. ผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร pH 5.7-5.8 เพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ที่ควบคุมอุณหภูมิ 25±2 °C ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสง 3,500 ลักซ์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกผล โดยวัดจำนวนหน่อ ความสูงต้น จำนวนราก ความยาวราก และ จำนวนใบ

วิเคราะห์ผลการทดลอง

โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เพื่อหาค่าเฉลี่ย (mean) ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Standard error) และทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s New Multiple Range Test

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลของ BAP, Kinetin, และ BAP ร่วมกับ NAA ต่อการเจริญเติบโตของต้นแก้วสารพัดนึก

จากการศึกษาสูตรอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP, Kinetin และ BAP ร่วมกับ NAA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน พบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม BAP 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล. สามารถชักนำให้เพิ่มจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 8.20 ยอดต่อต้น และสูตรอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติม BAP 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล สามารถชักนำให้จำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด 3.80 ใบต่อต้น เนื่องจากพืชส่วนใหญ่มีการพัฒนาของอวัยวะได้เมื่อได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 กลุ่ม คือ ออกซินและไซโตไคนิน ซึ่งสัดส่วนทั้งสองกลุ่มเป็นตัวกำหนดพัฒนาของเนื้อเยื่อไปเป็นยอดและราก (รังสกฤษดิ์, 2545) ดังนั้นการใช้ BAP หรือ Kinetin เพียงอย่างเดียวอาจไม่ใช่สูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดในการพัฒนาให้เกิดยอด ซึ่งมีรายงานการศึกษาของ Skoog และ Miller (1957) พบว่าการใช้ไซโตไคนินร่วมกับออกซินในอัตราส่วนต่ำที่เหมาะสมจะส่งเสริมการพัฒนาของยอด และสอดคล้องกับการชักนำให้เกิดยอดของ *Caladium bicolor* พบว่าการใช้ BAP ร่วมกับ NAA มีผลต่อการเกิดยอดได้ดีกว่าการใช้ BAP เพียงอย่างเดียว (Ali และคณะ, 2007) สูตรอาหารสังเคราะห์ MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำให้ความสูงเฉลี่ยสูงสุด 4.80 ซม. และสามารถชักนำความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 5.78 ซม. สอดคล้องรายงานการวิจัยของ Bhatt และคณะ, 2013 ศึกษาการขยายพันธุ์ *Alocasia* 5 ชนิด พบว่า MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำให้เกิดรากและความสูงของต้นสูงที่สุด ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เติมลงไปมีผลยับยั้งการเจริญเติบโต จึงทำให้เนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่มีเติม

สารควบคุมการเจริญเติบโตมีการเจริญเติบโตดีกว่า (ยงศักดิ์ และอัญชลี, 2558) ในขณะที่สูตรอาหาร MS ที่เติม Kinetin 1 และ 2 มก./ล. สามารถชักนำให้เพิ่มจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 8.20 และ 8.40 รากต่อต้น ตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

สรุปผล

สูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนแก้วสารพัดนึกให้ได้จำนวนยอดมากที่สุด คือ สูตรอาหาร MS ที่เติม BAP 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 1 มก./ล. และสูตรอาหารสังเคราะห์ MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต สามารถชักนำให้ต้นสูง ชักนำความยาวรากสูงสุด 5.78 ซม. ในขณะที่สูตรอาหาร MS ที่เติม Kinetin 1 และ 2 มก./ล. สามารถชักนำให้เพิ่มจำนวนรากมากที่สุด ขั้นตอนที่สำคัญต่อไปคือการนำออกปลูกในสภาพแวดล้อมภายนอกที่ควรมีการศึกษาตั้งแต่การปรับสภาพของต้นอ่อน เทคนิคการปลูกเลี้ยง ปัจจัยสภาพแวดล้อมและธาตุอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโต เพื่อให้ได้ผลผลิตที่ได้มาตรฐานต่อไป

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณหน่วยวิจัยเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี ที่สนับสนุนทุนวิจัย และเอื้อเฟื้อสถานที่ในการดำเนินการวิจัย ทำให้การศึกษาวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

เทวฤทธิ์ เทพนรินทร์ สุรียา ตันติวิวัฒน์ และมาลี ณ นคร, 2541, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแก้วหน้าม้าทะเลบัน, การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 36, 3-5 กุมภาพันธ์ 2541, กรุงเทพฯ

ยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ และอัญชลี จาละ, 2558, อิทธิพลของ BA, IAA, 2,4-D และ Kinetin ต่อการขยายพันธุ์ต้นแก้วมังกรจากไฮโปรคอทิลและใบจริงในสภาพปลอดเชื้อ, วารสารคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, 4(2): 147-154.

รังสฤษฎ์ กาวีต๊ะ, 2545, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 219 หน้า.

Ahmed, E.U., Hayashi, T. and Yazawa, S., 2004, Auxin Increase the Occurrence of Leaf-Colour Variants in *Caladium* Regenerated from Leaf Explants, Scientia Horticulturae, 100: 153-159.

Ali, A., Munawar, A. and Naz, S., 2007, An *In Vitro* Study on Micropropagation of *Carladium bicolor*, International of Agriculture and Biology, 9(5): 731-735.

Bhatt, A., Stanly, C. and Keng, C.L., 2013, *In Vitro* Propagation of Five *Alocasia* species, Horticultura Brasileira, 31: 210-215.

Bunnag, S., 2017, Plant Tissue Culture and Plant Gene Transfer, Khon Kaen University Press, Khon Kaen.

Medecilo, M.P., Amoroso, V.B. and Ong, R., 2008, *Alocasia sanderiana*. In: IUCN (International Union for Conservation of Nature), 2009 IUCN Red List& of Threatened Species. Version 2009.1, [Online], Available: http://www.iucnredlist.org [October 15, 2020].

Murashige, T. and Skoog, F., 1962, A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures, Plant Physiology, 15: 473–497.

Skoog, F. and Miller, C., 1957, Chemical Regulation of Growth and Organ Formation in Plant Tissue Cultured *In Vitro*, Symposia of the Society for Experimental Biology, 11: 118–131.

Thepsithar, C., Thongpukdee, A., Sugaram, R. and Somkanae, U, 2011, Mutated Clones of *Caladium Humboldtii* ‘Phraya Savet’ from *in vitro* Culture and Occurrence of Variants from Somatic Hybridization between Two *Caladium* Species, Journal of Life Sciences, 5: 352-359.

Figure 1 Effect of BAP Kinetin and NAA on shoot culture of *Alocasia sanderiana* W. Bull. after 6 weeks.
A. MS (control) B. BAP 1 mg/l C. BAP 2 mg/l D. BAP 4 mg/l E. BAP 8 mg/l F. KIN 1 mg/l
G. KIN 2 mg/l H. KIN 4 mg/l I. KIN 8 mg/l J. BAP1+NAA0.5 mg/l K. BAP1+NAA1 mg/l
L. BAP2+NAA0.5 mg/l M. BAP2+NAA1 mg/l

Table 1 Effect of BAP Kinetin and NAA on shoot culture of *Alocasia sanderiana* W. Bull. after 6 weeks.
Means followed by the same latter are not significantly different at $p<0.05$

Concentation of Plant Growth regulator	NO. of shoots/explant	Length of shoots/explant (cm)	NO. of roots/shoot	Length of roots/shoot (cm)	NO. of Leaves/shoot
1. MS	1.00 ± 0.00^{f}	4.80 ± 0.37^{a}	7.00 ± 0.55^{ab}	5.78 ± 0.65^{a}	1.8 ± 0.20^{bcd}
2. MS+BAP 1 mg/l	2.80 ± 0.37^{de}	3.30 ± 0.51^{bcd}	6.80 ± 1.62^{abc}	2.02 ± 0.30^{cd}	2.6 ± 0.75^{abc}
3. MS+BAP 2 mg/l	4.20 ± 0.37^{cd}	2.20 ± 0.12^{de}	3.60 ± 1.21^{cde}	1.42 ± 0.14^{cd}	3.60 ± 0.60^{ab}
4. MS+BAP 4 mg/l	3.80 ± 0.37^{d}	2.20 ± 0.12^{de}	2.40 ± 0.24^{de}	0.72 ± 0.06^{d}	1.40 ± 0.40^{cd}
5. MS+BAP 8 mg/l	4.00 ± 0.00^{cd}	2.00 ± 0.00^{e}	2.00 ± 0.00^{e}	0.50 ± 0.00^{d}	0.00 ± 0.00^{d}
6. MS+ Kinetin 1 mg/l	0.60 ± 0.40^{f}	2.70 ± 0.34^{bcde}	8.20 ± 1.20^{a}	5.50 ± 0.27^{a}	1.60 ± 0.40^{cd}
7. MS+ Kinetin 2 mg/l	1.00 ± 0.45^{f}	3.30 ± 0.73^{bcd}	8.40 ± 1.21^{a}	4.13 ± 0.31^{b}	1.20 ± 0.37^{cd}
8. MS+ Kinetin 4 mg/l	0.80 ± 0.37^{f}	2.70 ± 0.37^{bcde}	5.60 ± 1.08^{abcd}	2.60 ± 0.37^{c}	1.40 ± 0.51^{cd}
9. MS+ Kinetin 8 mg/l	1.20 ± 0.80^{ef}	2.30 ± 0.20^{de}	3.60 ± 1.21^{cde}	2.88 ± 1.33^{bc}	0.20 ± 0.20^{d}
10. MS+BAP1+NAA0.5 mg/l	5.60 ± 0.51^{bc}	3.90 ± 0.43^{ab}	7.00 ± 0.71^{ab}	0.88 ± 0.17^{d}	3.80 ± 0.86^{a}
11. MS+BAP1+NAA1 mg/l	4.40 ± 0.51^{bcd}	3.60 ± 0.51^{bc}	3.60 ± 0.98^{cde}	0.50 ± 0.14^{d}	3.00 ± 1.05^{abc}
12. MS+BAP2+NAA0.5 mg/l	6.00 ± 0.32^{b}	2.40 ± 0.19^{cde}	3.80 ± 0.92^{bcde}	0.46 ± 0.06^{d}	2.20 ± 0.58^{abc}
13. MS+BAP2+NAA1 mg/l	8.20 ± 1.28^{a}	2.90 ± 0.19^{bcde}	7.20 ± 0.66^{a}	0.69 ± 0.15^{d}	3.60 ± 0.68^{ab}