

## ผลของ BA ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนต้นกระชายดำ ในสภาพปลอดเชื้อ

### Effects of BA on Micropropagation of *Boesenbergia pandurata* Holtt.

อภิชาติ ชิดบุรี<sup>1</sup> พงศ์ยุทธ นวลบุญเรือง<sup>1</sup> และ พิทักษ์ พุทธวรชัย<sup>1</sup>  
*Aphichat Chdiburee<sup>1</sup> Phongyuth Nualbunruang<sup>1</sup> and Pitak Puttawarachai<sup>1</sup>*

**Abstract:** Shoot buds of *Boesenbergia pandurata* Holtt. were cultured on MS media with varying levels of BA at 0, 2, 4 and 8 mg/l. The heighten of shoot multiplication were formed on MS media supplied with 8, 4 and 2 mg/l of BA at 5.33, 4.33 and 4.00 shoots/tissue, respectively. However, the number of shoots were not significantly different.. The lowest number of shoot was from no BA media i.e. 1.33 shoots/tissue. The longest root was from no BA media i.e. 5.43 cm, followed by 4 and 8 mg/l BA media i.e. 1.3 and 1.7 cm, respectively. MS media of 2 mg/l BA showed no root formation. Shoot length, leave number, root number per tissue, fresh weight and dry weight were not not significantly different.

**บทคัดย่อ:** ผลของ BA ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนต้นกระชายดำเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยศึกษาระดับความเข้มข้นของ BA 4 ระดับ คือ 0, 2, 4 และ 8 มก/ล ที่เติมในอาหารเลี้ยงสูตร MS(1962) พบว่า อาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2, 4 และ 8 มก/ล ทำให้จำนวนยอดที่เกิดขึ้นส่วนมากที่สุด คือ 4.00, 4.33 และ 5.33 ยอด ตามลำดับ แต่จำนวนยอดที่เกิดขึ้นเมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติม BA ทุกระดับความเข้มข้น ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนอาหารที่ไม่มี BA มีจำนวนยอดที่เกิดขึ้นน้อยที่สุด คือ 1.33 ยอด สำหรับชิ้นส่วนที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่เติม BA มีความยาวของรากยาวที่สุด คือ 5.43 ซม ส่วนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 4 และ 8 มก/ล มีความยาวรากรองลงมา คือ 1.3 และ 1.7 ซม แต่ในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มก/ล ไม่เกิดราก นอกจากนี้ความยาวของยอด จำนวนใบ จำนวนรากที่เกิดขึ้นส่วน น้ำหนักสดและแห้งของชิ้นส่วน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

**Index Words :** กระชายดำ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

*Boesenbergia pandurata* Holtt., *in vitro*, BA, Tissue culture.

<sup>1</sup>สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ต.พิชัย อ.เมือง จ.ลำปาง 52000

<sup>1</sup>Lampang Agricultural Research and Training Center, Rajamangala Institute of Technology, Lampang 50200, Thailand.

## คำนำ

กระชายดำ (*Boesenbergia pandurata* Holt.) เป็นประเภทเดียวกับกระชายเหลืองที่นำมาใช้ปรุงอาหาร นอกจากนี้ยังมีกระชายแดง สรรพคุณเป็นยาบำรุงหัวใจ บำรุงกำลัง แก้ใจสั้นหวีว ขับปัสสาวะพิการ แก้บิดมูกเลือด แก้ปวดมวนในท้อง ท้องเดิน ให้ใช้หัวหรือเหง้าปิ้งไฟให้สุกฝนกับน้ำปูนใส ถ้าเป็นโรคที่เกี่ยวกับกามตายด้านหรือบำรุงกำหนด ใช้นมกระชายดำและหัวคอง หรือแช่กับเหล้ากิน ส่วนที่นำมาใช้ประโยชน์คือ รากเหง้าหรือหัวที่อยู่ใต้ดิน (สถาบันวิจัยโภชนาการ, 2541) ต้นกระชายดำเป็นพรรณไม้ล้มลุก ลำต้นมีความสูงประมาณ 90 ซม. ส่วนกลางของลำต้นเป็นแกนแข็ง มีกาบหรือโคนใบหุ้ม (ภาพที่ 1(a)) ใบมีกลิ่นหอม ก้านใบแทงขึ้นจากหัวในดิน ขนาดใบกว้าง 7-9 ซม ยาว 30-35 ซม ดอกมีสีม่วงแดง ดอกออกเป็นช่อ กลีบรองกลีบดอกเชื่อมติดกัน มีรูปลักษณะเป็นท่อ มีขน โคนเชื่อมติดกันเป็นท่อยาว เกสรตัวผู้เหมือนกับกลีบดอก อับเรณูอยู่ใกล้ปลาย ท่อเกสรตัวเมียมีขนาดยาวเล็ก ยอดของเป็นรูปปากแตรเกลี้ยงไม่มีขน (ภาพที่ 1(b)) (วิทย์, 2536) ซึ่งปัจจุบันกระชายที่ใช้บริโภคเป็นเครื่องเทศประกอบอาหารทั่วไปมีปริมาณความต้องการเป็นวัตถุดิบของสมุนไพรแห้งประมาณ 20 ตันต่อปี ราคา กิโลกรัมละ 35 บาท และพืชกระชาย ยังเป็นสมุนไพรที่มีการตั้งชื่อเป็นกลุ่มยาแผนปัจจุบันที่มีศักยภาพในการพัฒนาสมุนไพรขึ้นมทดแทนในกลุ่มยาที่รักษาโรคในช่องปาก ซึ่งมีมูลค่าการสั่งซื้อของโรงพยาบาล 14,382 ล้านบาท ส่วนร้านขายยา 58,726 ล้านบาท คิดเป็นมูลค่ารวม 73,108 ล้านบาท (สมบูรณ์, 2541) การผลิตเหง้าหัวพันธุ์พืชกระชายโดยวิธีปกติสามารถทำได้โดยการแยกเหง้าหรือหน่อ ซึ่งมักพบปัญหาเกี่ยวกับการพักตัวและการเกิดโรคหัวเน่า นอกจากนี้สามารถปลูก

ได้เพียงครั้งเดียวในปีหนึ่งๆ ทำให้การเพิ่มปริมาณหัวไม่ทันกับความต้องการของตลาดผลิตสมุนไพร ด้วยเหตุนี้จึงได้ทำการศึกษาการเพิ่มปริมาณต้นโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อให้ได้ต้นกล้าปริมาณมากในเวลาที่รวดเร็ว และให้ทันต่อความต้องการของตลาดต่อไป

## วิธีการทดลอง

โดยนำส่วนของหน่อข้างอ่อนที่แตกออกมาจากเหง้าเดิมซึ่งปลูกเลี้ยงไว้ในแปลงเพาะชำหลังจากนั้นเมื่อเกิดหน่อใหม่ แล้วตัดส่วนของหน่อใหม่ด้านข้างที่มีใบจำนวน 1 ใบ ความสูงจากพื้นดินประมาณ 10 ถึง 15 ซม (ภาพที่ 1(c)) ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำไหลเอาเศษดินที่ติดมาออกให้หมด แล้วจึงล้างด้วยสบู่เหลว พร้อมกับลอกกาบใบที่หุ้มอยู่ที่แผ่นหรือเสียบายออกทิ้งไป 2-3 ชั้น หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นอีกครั้ง แล้วซับน้ำที่ติดมาด้วยกระดาษทิชชู เมื่อแห้งแล้วทำการฆ่าเชื้อที่ผิวของหน่อ โดยเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ให้ทั่วทั้งหน่อ หลังจากนั้นทำการฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 2 โดยนำไปแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ที่มีความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลาจึงนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ทำภายในตู้ปลอดเชื้อหน่อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วตัดเนื้อเยื่อส่วนของปลายยอด (shoot tip) มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ภายใต้สภาพความเข้มแสงประมาณ 1,900 ลักซ์ เป็นเวลานาน 16 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียส หลังจากเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนของปลายยอดได้นาน 21 วัน เกิดยอดออกมา (ภาพที่ 1(d)) แล้วนำมาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร MS (1962) ให้ได้ยอด (shootlet) สำหรับนำไปใช้ในการศึกษาความเข้มข้นของ BA จำนวน 4 ระดับ คือ

0, 2, 4 และ 8 มก/ล โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่ม สมบูรณ์ (CRD, Completely Randomized Design) รวมทั้งสิ้น 4 กรรมวิธี ๆ ละ 10 ซ้ำ บันทึกข้อมูลความสูงของยอดในแต่ละสัปดาห์ จำนวนยอดที่เกิดต่อช่อด้านเริ่มเลี้ยง จำนวนใบของยอดใหม่ที่เกิดต่อช่อด้านเริ่มเลี้ยง จำนวนรากที่เกิดต่อช่อด้าน ความยาวของรากที่ยาวที่สุด น้ำหนักสดและแห้งของช่อด้าน ลักษณะอื่น ๆ เช่น สีของใบ ราก

### ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลของระดับความเข้มข้นของ BA ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนต้นของกระชายดำแสดงไว้ในตารางที่ 1 พบว่าอาหารที่ไม่ได้เติม BA มีจำนวนยอดที่เกิดต่อช่อด้านเริ่มเลี้ยงน้อยที่สุด คือ 1.33 ยอด และยอดที่เกิดขึ้นจะพัฒนาเป็นต้นที่มีสีเขียว (ภาพที่ 1) ในขณะที่อาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2, 4 และ 8 มก/ล จะกระตุ้นให้เกิดยอดได้มากกว่าที่ไม่ได้เติม BA คือ 4.00, 4.33 และ 5.33 ยอดต่อช่อด้านตามลำดับ แต่ที่เติม BA ความเข้มข้นต่าง ๆ นั้นมีจำนวนยอดที่เกิดต่อช่อด้านเริ่มเลี้ยงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นยอดเล็ก ยอดมีสีเขียวและแถบสีน้ำตาลซึ่งเป็นลักษณะของต้นกระชายดำ (ภาพที่ 3) สำหรับช่อด้านที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มี BA มีความยาวของรากยาวที่สุด คือ 5.43 ซม ในขณะที่อาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 4 และ 8 มก/ล มีความยาวของรากคือ 1.3 และ 1.7 ซม แต่ในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มก/ล ไม่เกิดราก นอกจากนี้ความยาวของยอด จำนวนใบ จำนวนรากที่เกิดต่อช่อด้าน น้ำหนักสดและแห้งของช่อด้านไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยความยาวของยอดอยู่ในช่วง 1.20-4.00 ซม จำนวนใบอยู่ในช่วง 1.00-1.33 ใบ จำนวนรากที่เกิดต่อช่อด้าน อยู่ในช่วง 2.00 - 3.67

รากต่อช่อด้าน น้ำหนักสด อยู่ในช่วง 0.40 - 0.55 กรัม และน้ำหนักแห้ง อยู่ในช่วง 0.04 - 0.09 กรัม

สาเหตุการเกิดยอดของกระชายดำเมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติม BA เนื่องจาก BA ไปกระตุ้นให้จุดกำเนิดของตาข้างที่มีอยู่แล้วและที่กำลังจะเกิดใหม่ให้เกิดการพัฒนาเป็นต้นใหม่ แต่ช่อด้านที่เลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม BA จะมีจำนวนน้อยเนื่องจากไม่ได้รับสารที่ไปช่วยกระตุ้นให้เกิดการพัฒนาของต้นใหม่อย่างเพียงพอ ช่อด้านที่ได้รับสารที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตต่าง ๆ นั้นในช่อด้านของพืช เนื้อเยื่อมีการเจริญและพัฒนาสม่ำเสมอ ดังนั้นระดับของฮอร์โมนพืชที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อจึงมีการเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพของเนื้อเยื่อในระยะนั้น ๆ จึงมีการใช้ BA เพื่อเป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อซึ่งมีผลต่อการแบ่งเซลล์และกระตุ้นการเจริญของตา ปัจจัยอย่างหนึ่งในการกระตุ้นการเจริญเติบโต คือความเข้มข้นที่ใช้โดยทั่วไป ความเข้มข้นของฮอร์โมนที่ใช้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ได้แก่ ตำแหน่งของเนื้อเยื่อที่มีความอ่อนแก่ต่างกัน หรือ ปริมาณความเข้มข้นที่เจาะจง (absolute concentration) ของฮอร์โมน เป็นต้น และถ้าพืชสร้างฮอร์โมนได้พอเพียงแล้วเมื่อเติมฮอร์โมนใส่ในอาหารเลี้ยงอีกจะมีผลในทางหักล้างการเจริญเติบโต ซึ่ง Bhagyalakshmi and Singh (1988) ได้รายงานว่าการเลี้ยงช่อด้านบนอาหารที่มี BAP มีผลทำให้จำนวนยอดเพิ่มมากขึ้น แต่จะยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นและการเกิดราก

หลังจากนั้นนำยอดที่ได้เลี้ยงบนอาหารแข็ง สูตร MS(1962) ที่ไม่เติมฮอร์โมนนาน 30 วัน ยอดจึงพัฒนาเป็นต้นและเกิดราก (ภาพที่ 4(a)) แล้วนำย้ายออกปลูก นาน 21 วัน (ภาพที่ 1(b))

ผลการทดลอง

**Table 1** The characteristics of explant cultured on MS(1962) media with BA added at different concentration.

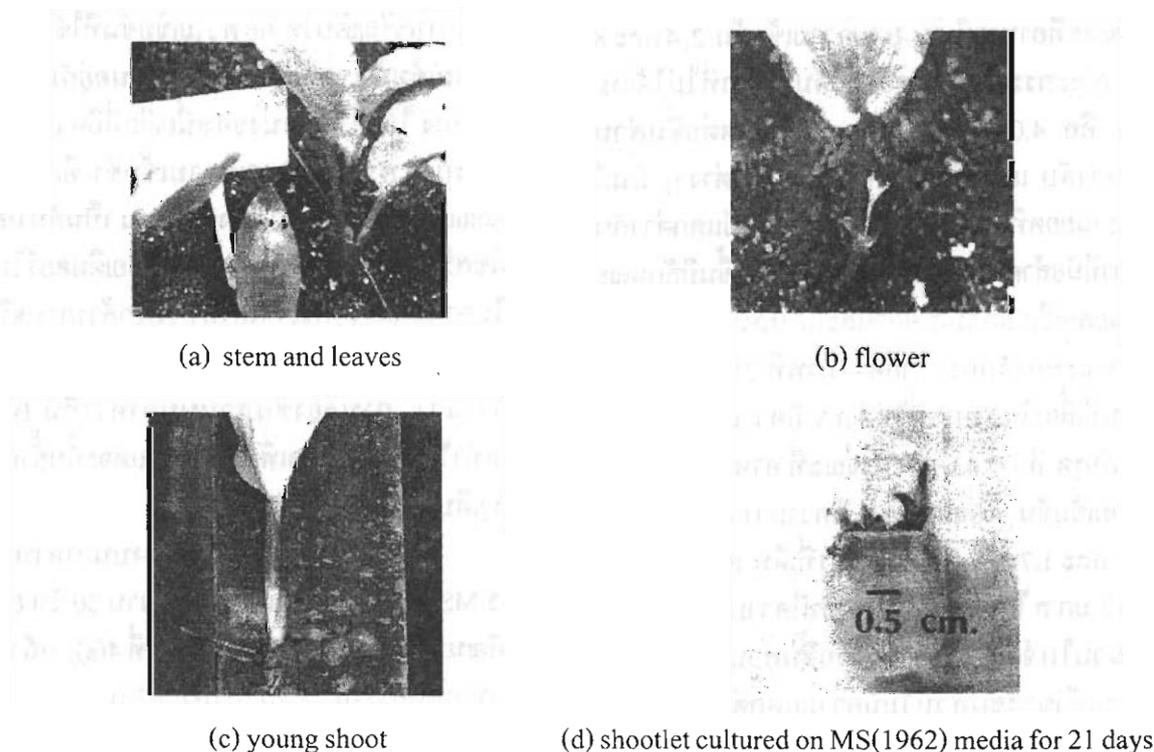
| Concentration of BA (mg/l) | No. of shoot        | Length of shoots(cm) | No. of leaves | No. of roots    | Length of roots(cm) | Fresh weight(g) | Day weight(g) |
|----------------------------|---------------------|----------------------|---------------|-----------------|---------------------|-----------------|---------------|
| 0                          | 1.33b <sup>1/</sup> | 4.00                 | 1.00          | 3.67            | 5.43a               | 0.40            | 0.09          |
| 2                          | 4.00a               | 2.03                 | 1.33          | - <sup>2/</sup> | -                   | 0.48            | 0.04          |
| 4                          | 4.33a               | 2.40                 | 1.00          | 2.00            | 1.30b               | 0.55            | 0.06          |
| 8                          | 5.33a               | 1.20                 | 1.00          | 2.33            | 1.70b               | 0.46            | 0.06          |
| <b>LSD 0.05</b>            | *                   | ns                   | ns            | ns              | *                   | ns              | ns            |

<sup>1/</sup> Means within column followed by the same letter are not significantly different at 5 % level by LSD.

ns = not significant

\* = significant at 5%

<sup>2/</sup> no root



**Figure 1** Stems and leaves(a), flowers(b), young shoots(c) and shootlet of *Boesenbergia pandurata* Holtt. cultured on MS(1962) media for 21 days (d).

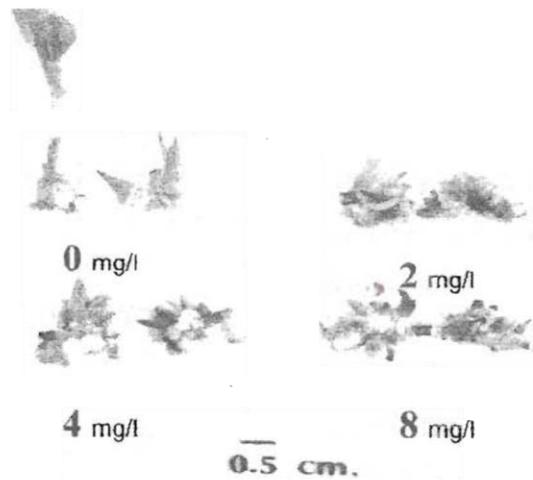


Figure 2 Shootlet and roots of explants cultured on MS (1962) media with BA added at different concentration.

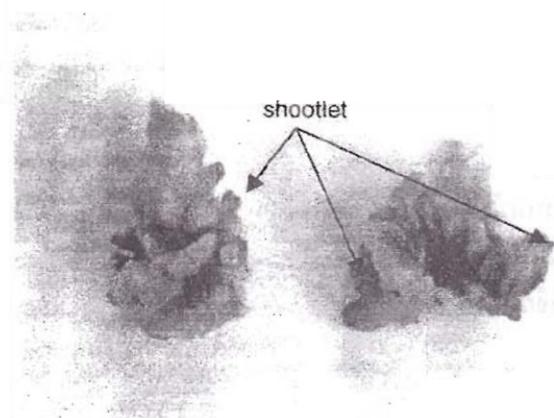


Figure 3 Shootlet initiated from explants cultured on MS (1962) media with 2 mg/l BA for 30 days.

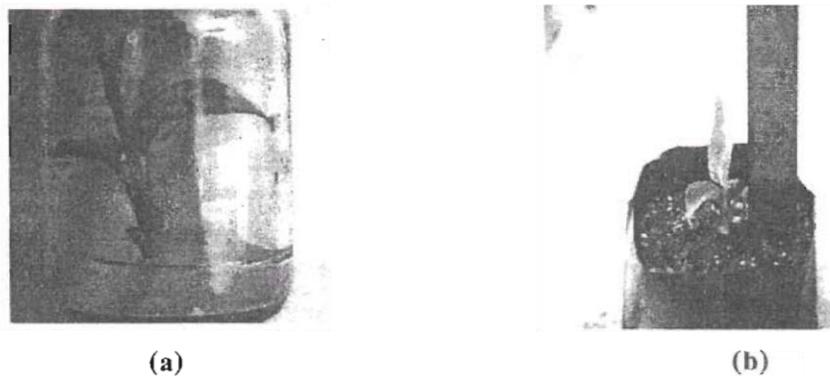


Figure 4 Young plants develop from initiated shoot and root culture on MS (1962) media for 30 days and after transplanting into plastic bags for 21 days (b).

## สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาผลของระดับความเข้มข้นของ BA ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนต้นกระชายดำในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มจำนวนต้นกระชายดำในเวลาที่รวดเร็ว อาหารที่ใช้เลี้ยงต้องมีการเติม BA ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 2, 4 และ 8 มก/ล โดยที่ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้นของ BA ให้ผลในการเพิ่มจำนวนต้นไม่แตกต่างกัน แต่ที่ระดับความเข้มข้น 2 มก/ล เหมาะสมที่สุด เนื่องจากใช้ในปริมาณที่น้อย และไม่เกิดการสิ้นเปลือง นอกจากนี้ยังไม่เกิดรากบนชิ้นส่วน ซึ่งทำให้สะดวกในการย้ายถ่ายเนื้อเยื่อครั้งต่อไป

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเกษตรอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์หน่อพันธุ์กระชายดำสำหรับในการศึกษาวิจัยครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

- วิทย์ เทียงบุญธรรม. 2536. พจนานุกรมสมุนไพรไทย. สำนักพิมพ์สุริยบรรณ, กรุงเทพฯ. 880 น.
- สมบูรณ์ ลีประเสริฐ. 2541. ผักพื้นบ้านและสมุนไพรกับการพัฒนาสู่เศรษฐกิจชุมชน. หน้า 29 - 55. ในสรุปผลการประชุมสัมมนาผักพื้นบ้านอาหารธรรมชาติอีสานและสมุนไพรไทย ครั้งที่ 3 25 - 28 พฤศจิกายน 2541 ณ สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรสกลนคร, สกลนคร.
- สถาบันวิจัยโภชนาการ. 2541. มหัศจรรย์ผัก. คบไฟ, กรุงเทพฯ. 412 น.
- Bhagyalakshmi, M. and N.S.Singh. 1988. Meristem culture and micropropagation of a variety of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) with a high yield of oleoresin. J.Hort.Sci. 63(2): 321-327.