วารสารเกษตร 15(2) : 156 - 163 (2542)
Journal of Agriculture 15(2) : 156 - 163 (1999)

# ผลของการเลี้ยงก้านใบของต้นเท้ายายม่อม ต่อการพัฒนาเป็นต้นใหม่

# Petiole Culture of *Tacca pinnatifida* Foret.& Foret.T

*กนิษฐิกา ตันติสุนทร[1/] และพิมพ์ใจ อาภาวัชรุตม์[1/]*
*Kanitthika Tantisoonthorn[1/] and Pimchai Apavatjrut[1/]*

**Abstract :** Basal petiole explants from 4 leaf position and explants from 5 different positions of each leaf petiole cultured onto MS medium containing 0.05 mg/l 2,4-D showed that leaf position had significant effect on the new shootlet obtained i.e. 2 mm basal explants from the third leaf could be induced to form highest average number of new shootlets at 3.75+1.29, and required least number of days i.e. 61.25+33.34 to form shootlets.

**บทคัดย่อ :** เมื่อนำชิ้นส่วนขนาด 2 มม จากก้านใบของต้นเท้ายายม่อม 4 ตำแหน่ง จากโคนก้านใบ 5 ตำแหน่ง ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D 0.05 มก/ล เป็นเวลา 27 สัปดาห์ พบว่าใบทั้ง 4 ตำแหน่ง สามารถชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้แต่จะเกิดเฉพาะตำแหน่งที่ 1 จากโคนก้านใบเท่านั้น ส่วนตำแหน่งอื่น ไม่สามารถชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้เลย จากการทดลองนี้พบว่าชิ้นส่วนโคนก้านใบ ของใบที่ 3 สามารถชักนำให้เกิดต้นใหม่เฉลี่ยมากที่สุด และใช้เวลาน้อยที่สุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากใบตำแหน่งอื่น และการเลี้ยงใบตำแหน่งที่ 3 นั้น สามารถเกิดยอดได้ 80 เปอร์เซ็นต์ โดยต้นใหม่ที่ได้จากการทดลองนี้ทั้งหมดเกิดโดยผ่านโครงสร้างคล้ายคัพภะเทียม (embryo-like structure) ที่เป็นก้อนกลม สีขาว ผิวมัน เกิดใกล้กลุ่มเซลล์ท่อลำเลียง

**Key words :** เท้ายายม่อม การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
Petiole Culture, *Tacca pinnatifida* Foret.& Foret.T

---

[1/] ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200
Department of Horticulture , Faculty of Agriculture , Chaing Mai University , Chaing Mai 50200, Thailand.

## คำนำ

ต้นเท้ายายม่อม ซึ่งมีชื่อภาษาอังกฤษว่า Tacca , Fiji arrowroot หรือ Tahiti arrowroot เป็นพืชล้มลุกหลายฤดู จัดอยู่ในตระกูลTaccaceace ซึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์ ว่า *Tacca pinnatifida* Foret. & Foret.T. หรือ *T.leontopetaliodes* Kuntre. (พจนานุกรมฉบับบัณฑิตยสถาน, 2525) มีหัวเป็น แบบ tuberous rhizome เกิดหลายหัวรวมกลุ่มกัน หัวมีอายุหลายปี (Clump-forming rhizomatous perrennial) มีแป้งมาก (Everett, 1968) สามารถนำมาสกัดทำแป้งเรียกว่าแป้งเท้ายายม่อม เป็นสมุนไพรสำหรับคนไข้ที่เบื่ออาหาร อ่อนเพลีย (สุนทรี, 2536) นอกจากนี้หัวยังใช้เป็นยาพอก ริดสีดวงทวาร และมีสารรสขม ชื่อ Taccalin สามารถใช้เป็นยาแก้ท้องอืดท้องเสียและโรคเกี่ยวกับลำไส้ ส่วนใบและเมล็ดมีรายงานว่ามีสารแอลคาลอยด์ (ศูนย์สนเทศการเกษตรและ สหกรณ์, 2528)

ต้นเท้ายายม่อมเป็นพืชที่ขึ้นเองตามธรรมชาติ สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน ทั้งน่าจะเป็นไม้ประดับกระถางได้ดี แต่ยังไม่มีการปลูกเพื่อผลิตเป็นจำนวนมาก (โสภณ, 2528) แต่การหาวัสดุพันธุ์พืชที่สม่ำเสมอเพื่อนำมาเริ่มต้นศึกษาและนำมาเริ่มต้นการผลิตยังขาดแคลน แม้จะมีรายงานความสำเร็จจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชประเภทหัวหลายชนิดแต่ยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นเท้ายายม่อม มีการทดลองกับพืชประเภทหัวหลายชนิดที่สามารถขยายพันธุ์โดยการเลี้ยงชิ้นส่วนพืชบนอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตต่าง ๆ กัน เช่น การทดลองของ Gonzalez and Alderson (1990) สามารถชักนำแคลสัสของ *Alstroemeria* พันธุ์ Butterfly ที่เลี้ยงบนอาหารสูตรการที่มี Picloram (2 หรือ 4 มก/ล) หลังจากเลี้ยง 3 สัปดาห์ เกิด compact callus สีเหลืองส่วน Le Nard and Chanteloube (1992) ศึกษาการผลิตหัวของทิวลิป *(Tulipa gesneriana L )* ในสภาพปลอดเชื้อ โดยการเลี้ยงชิ้นส่วนก้านเกิดยอดจำนวนมากที่สุดเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มก/ล ร่วมกับ BAP 1 มก/ล.และ 2iP 3 มก/ล ส่วนพันธุ์ Gander เกิดยอดเพิ่มขึ้นเมื่อเปลี่ยนความเข้มข้น NAA 2 มก/ล ร่วมกับ BAP 1 มก/ล และ 2iP 5 มก/ล ยอดเหล่านี้เมื่อนำไปเลี้ยงในสภาพที่อุณหภูมิลดลง สามารถเกิดหัวในหลอดทดลองได้

เพื่อให้สามารถผลิตต้นเท้ายายม่อมเป็นจำนวนมากได้ จึงได้ทำการศึกษาเพื่อหาชิ้นส่วนที่เหมาะสม สำหรับขยายพันธุ์ต้นเท้ายายม่อมได้อย่างมีประสิทธิภาพ

## อุปกรณ์และวิธีการ

**การเตรียมพืชทดลอง**

ต้นพืชที่ใช้ในการทดลองนี้ได้จากการเลี้ยงแคลลัส ของต้นเท้ายายม่อมบนอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D 0.05 มก/ล เป็นเวลา 28 สัปดาห์ จากนั้นเลือกใบจากต้นที่มีขนาดใกล้เคียงกันมาทำการทดลอง

## วิธีการทดลอง

ตัดชิ้นส่วนตามขวางจากก้านใบ 4 ตำแหน่ง และตำแหน่งต่าง ๆ จากโคนของ แต่ละก้านใบขึ้นมา 5 ตำแหน่ง ให้แต่ละชิ้นมีขนาด 2 มม นำมาเลี้ยงบนอาหารพื้นฐานสูตร MS (1962) ที่เติม 2, 4-D 0.05 มก/ล โดยเตรียมใส่ หลอดทดลองขนาด 25 x 150 มม หลอดละ 10 มล ความเข้มข้นวุ้น 10 ก/ล และน้ำตาลซูโครส 30 ก/ล นำไปเลี้ยงในสภาพภายใต้แสงต่อเนื่อง 24 ชม/วัน ความเข้มแสงประมาณ 1500 ลักซ์ (Lux) อุณหภูมิ 28 ± 2 องศาเซลเซียส

## การบันทึกผล

1. บันทึกจำนวนยอดใหม่เฉลี่ยที่เกิดขึ้น, เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด, จำนวนวันในการเกิดแคลลัส ต้นใหม่และราก
2. คุณภาพของแคลลัสและยอดใหม่
3. นำชิ้นส่วนพืชเริ่มต้นและเมื่อเลี้ยงจนสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงด้วยตาเปล่า มาศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา โดยดูภาพตัดตามขวาง

# ผลการทดลอง

## ผลของตำแหน่งใบและตำแหน่งบนก้านใบต่อการเกิดยอดใหม่

หลังจากเลี้ยงชิ้นส่วนก้านใบ ตำแหน่งต่าง ๆ นาน 27 สัปดาห์ พบว่าจำนวนวันเฉลี่ย เมื่อเริ่มเกิดยอดใหม่ และจำนวนยอดใหม่เฉลี่ยที่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่า การเลี้ยงใบที่ 3 ซึ่งเป็นใบกึ่งอ่อน ชิ้นส่วนตำแหน่งที่ 1 จากโคน ก้านใบสามารถชักนำให้ชิ้นส่วนพืชที่เลี้ยงเกิดยอดใหม่เฉลี่ยมากที่สุด คือ 3.75±1.29 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการเลี้ยงใบอื่น ๆ นอกจากนี้ยังใช้เวลาในการเริ่มเกิดยอดน้อยที่สุดอีกด้วย คือ ใช้เวลาเฉลี่ย 61.25±33.34 วัน และสามารถเกิดยอดได้ 80 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนชิ้นส่วน ที่เลี้ยงทั้งหมด ในขณะที่โคนก้านใบของใบที่ 4 เกิดยอดใหม่ได้เพียง 40 เปอร์เซ็นต์

**Table 1** **Average days for shootlet formation, number of new shootlet/explant, and percentage of explants forming shootlet , from different positions of cultured leaf petiole.**

| Leaf position from mature | Basal explant position from leaf petiole | Average number of new shootlet | Average days forming shootlet | % of explant forming shootlet |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 1 | 1.33 ± 0.47 c | 120.75 ± 3.03 a | 60 |
| 2 | 1 | 1.66 ± 0.47 c | 94.50 ± 18.18 b | 60 |
| 3 | 1 | 3.75 ± 1.29 a | 61.25 ± 33.34 c | 80 |
| 4 | 1 | 3.50 ± 0.50 b | 81.66 ± 31.47 b | 40 |

± = S.D.

abc = Significant at 0.05 % level

**ผลของตำแหน่งใบ และตำแหน่งชิ้นส่วนก้านใบต่อการเกิดรากและแคลลัส**

จำนวนวันที่ใช้ในการเกิดราก และแคลลัสของชิ้นส่วนก้านใบตำแหน่งต่าง ๆ เมื่อนำไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยการเกิดรากใช้เวลาเฉลี่ย 110.25 ±15.15 วัน ถึง 143.50±24.50 วัน แต่ไม่สามารถชักนำชิ้นส่วนตำแหน่งที่ 1 จากใบที่ 1 ซึ่งเป็นใบที่แก่ที่สุด ให้เกิดรากได้ ส่วนการเกิดแคลลัสนั้น จำนวนวันเฉลี่ยที่ใช้ในการเกิดแคลลัสก็ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกันคือใช้เวลาเฉลี่ย 70.00 ± 14.00 วัน ถึง 84.00 ± 0.00 วัน (ตารางที่ 2)

**Table 2 Average days for rootlet and callus formation from different position of petiole culture.**

| Leaf position | Basal explant position from petiole | Average days | |
|---|---|---|---|
| | | Rootlet formation | Callus formation |
| 1 | 1 | - | 77.00 ± 12.12 a |
| 2 | 1 | 143.50 ± 24.50 a | 70.00 ± 14.00 a |
| 3 | 1 | 110.25 ± 15.15 a | 84.00 ± 0.00 a |
| 4 | 1 | 119.00 ± 0.00 a | 70.00 ± 19.79 a |

- = no rootlet formation

a = Significant at 0.05% level

**คุณภาพของแคลลัสและยอดใหม่**

คุณภาพของแคลลัสและยอดใหม่เปรียบเทียบลักษณะเป็นเปอร์เซ็นต์จากจำนวนชิ้นส่วนพืชทั้งหมดได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3 พบว่าชิ้นส่วนโคนก้านใบจากใบที่ 3 ตำแหน่งสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 80 เปอร์เซ็นต์ โดยเกิดเป็นแคลลัสที่เกาะกันแน่นทั้งหมด ในขณะที่ใบตำแหน่งที่ 1 และ 2 เกิดแคลลัส 80 เปอร์เซ็นต์เช่นเดียวกัน แต่เป็นแคลลัสที่เกาะกันแน่น 60 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น และใบตำแหน่งที่ 4 เกิดแคลลัส 60 เปอร์เซ็นต์ แต่เป็นแคลลัสที่เกาะกันแน่น 40 เปอร์เซ็นต์ แคลลัสที่เกาะกันแน่นนี้เป็นแคลลัสที่มีผิวมัน เป็นก้อนกลมสีขาว ผิวมันและมีปลายสีเขียว ซึ่งต่อมาจะกลายเป็นต้นใหม่ได้

**Table 3 Percentage of different callus quality and new shootlet obtained from the cultured explants.**

| Leaf position | Basal explant position from leaf petiole | Callus (%) | | New shootlet formation (%) | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Total | Compact callus | Total | Nomal plantlet |
| 1 | 1 | 80 | 60 | 60 | 40 |
| 2 | 1 | 80 | 60 | 60 | 40 |
| 3 | 1 | 80 | 80 | 80 | 40 |
| 4 | 1 | 60 | 40 | 40 | 20 |

ต้นใหม่ที่เกิดจากใบตำแหน่งที่ 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ต้นใหม่ที่เกิดคือ 80 และ 40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบว่าจำนวนครึ่งหนึ่งของต้นใหม่ที่เกิดมีลักษณะปกติสมบูรณ์แข็งแรง ใบสีเขียวเข้ม ก้านใบอวบและไม่มีอาการฉ่ำน้ำ ส่วนใบตำแหน่งที่ 1 และ 2 นั้น เกิดต้นใหม่ 60 เปอร์เซ็นต์ โดยมีต้นลักษณะปกติ 40 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 1)

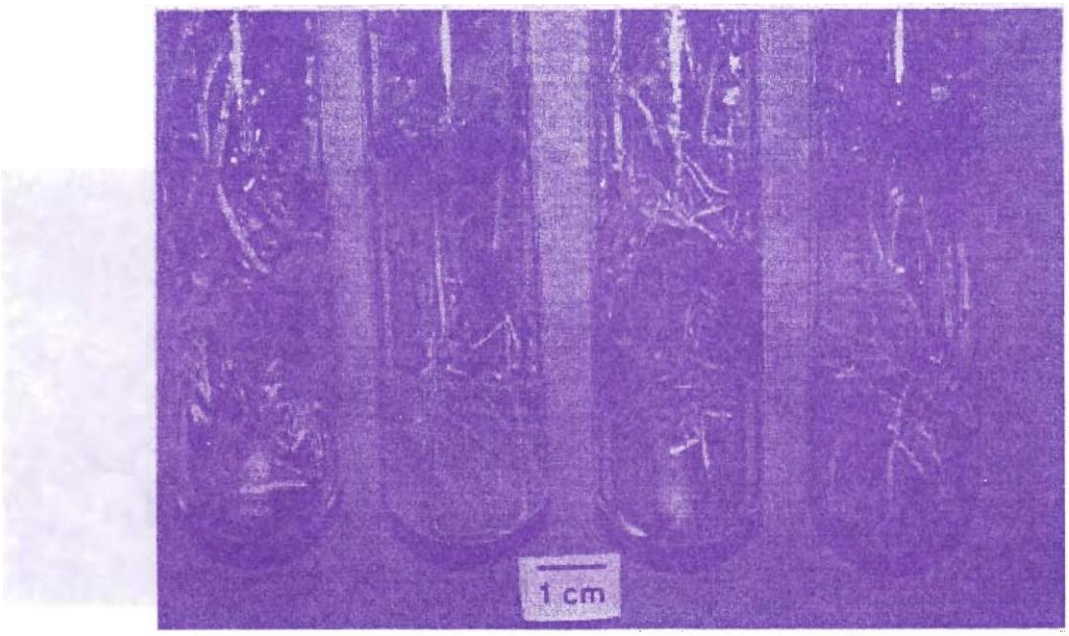



**Figure 1** New plants from petiole culture.

**การศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา**

เมื่อนำชิ้นส่วนที่เลี้ยงนาน 21 วัน ไปศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา พบว่าบริเวณด้านในของชิ้นส่วนก้านใบเกิดกลุ่มเซลล์ที่ตื่นตัว (active cells) ซึ่งสังเกตได้จากนิวเคลียสของเซลล์มีขนาดใหญ่และเซลล์ติดสีเข้ม (ภาพที่ 2) กลุ่มเซลล์รวมกันมองดูลักษณะค่อนข้างกลม กลุ่มเซลล์เหล่านี้สามารถพัฒนาเป็นยอดได้ในเวลาต่อมา (ภาพที่ 3B) ซึ่งลักษณะดังกล่าว เกิดขึ้นที่บริเวณเซลล์ผิว (epidermis) ทางด้านในของก้านใบ ใกล้กับท่อลำเลียง (ภาพที่ 3 A,B) แต่ในภาพที่แสดงไม่สามารถบอกได้ว่าเกิดจากเซลล์เริ่มต้นจุดไหน

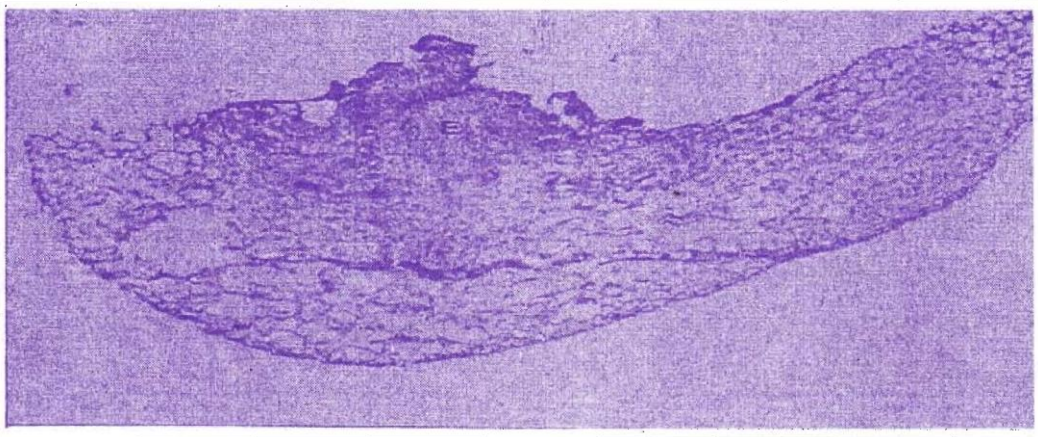
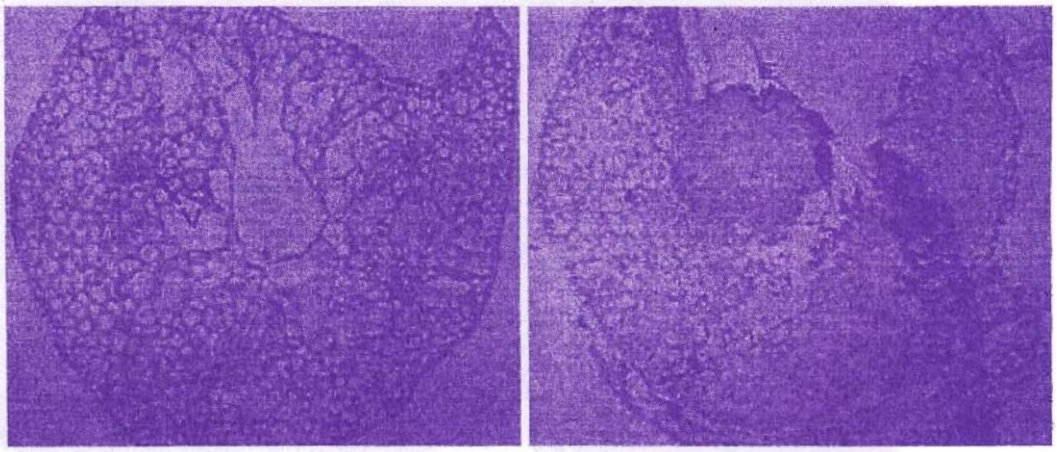


**Figure 2 Cross section of a basal petiole explant cultured on 2,4-D containing MS medium for 21 days (33.3X)**

E = pro embryo-like developing cells in explant



(A) (B)

**Figure 1 Cross section of a basal petiole cultured on 2,4-D MS medium (41.6X)**

V = vascular bundle

E = pro embryo-like developing cells

(A) Vascular bundle distributed althrough the explant

(B) Embryo-like structure

## วิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองเลี้ยงก้านใบ 4 ตำแหน่ง นับจากใบจริงที่แก่ที่สุด และตำแหน่งจากโคนก้านใบขึ้นมา 5 ตำแหน่ง ตำแหน่งละ 2 มม พบว่ามีเพียงตำแหน่งที่ 1 จากโคนก้านใบเท่านั้นที่สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนพัฒนาไปเป็นยอดหรือต้นใหม่ได้ ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะบริเวณโคน ก้านใบมีชั้นเซลล์ meristematic cell ติดอยู่ แต่ชั้นเซลล์ที่อยู่สูงขึ้นมาเป็นเซลล์ที่แก่กว่า (เนื้อเยื่อถาวร) ซึ่งต่างจากงานทดลองของ สอาด (2533) ที่เลี้ยงก้านช่อดอกส่วนโคนช่อ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากบริเวณส่วนปลายช่อมีเนื้อเยื่อเจริญ และสารควบคุมการเจริญเติบโตบางอย่างมากกว่าในเนื้อเยื่อพืชส่วนโคนช่อ ซึ่ง เนื้อเยื่อบริเวณนี้ ส่วนใหญ่ได้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเนื้อเยื่อถาวรแล้ว สำหรับก้านใบ 4 ตำแหน่ง พบว่าการใช้ใบที่ 3 ซึ่งเป็นตำแหน่งใบกึ่งอ่อน ได้ผลดีที่สุด คือให้จำนวนต้นใหม่เฉลี่ยมากที่สุด และใช้เวลาในการ เกิดน้อยที่สุด และยังเกิดได้ถึง 80 เปอร์เซ็นต์ แต่ในการทดลองของ Alderson *et al.* (1983) และ Le Nard *et al.* (1987) รายงานการเกิดยอดใหม่จากก้านทิวลิปเป็น 46 และ 57 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (อ้างจาก Hulscher *et al.*, 1992) นอกจากนี้ยังพบว่าการเลี้ยงโคนก้านใบที่แก่ที่สุด ไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้เลย ทั้งนี้อาจอธิบายได้ว่าตำแหน่งใบที่ต่างกันก็จะมีสมดุลของอ๊อกซินต่อไซโตไคนินที่แตกต่างกัน ขณะที่พบว่าโคนก้านใบของกล๊อกซีเนียขนาด 0.3 ซม นั้น ก้านใบกึ่งอ่อนและกึ่งแก่ก็เหมาะที่จะนำมาชักนำให้เป็นต้นกล้าเช่นเดียวกัน นอกจากนี้งานทดลองนี้ก็ได้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ Rice *et al.* (1983) ที่เลี้ยงชิ้นส่วนโคนและข้อแรกของก้านดอกทิวลิป พันธุ์ Merry Widow ซึ่งสามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ 20 – 25 ยอด/ชิ้นส่วนซึ่งดีกว่าการใช้ตำแหน่งที่สูงกว่าข้อแรก

ก้านใบของใบที่ 1 (นอกสุด) ไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ อาจเป็นเพราะสัดส่วนของอ๊อกซินต่อไซโตไคนินได้เปลี่ยนไปมาก ซึ่งสอดคล้องกับผลที่ว่า ใบที่ 1 ใช้เวลานานที่สุดในการสร้างยอดหรือเกิดยอดใหม่ ในขณะที่ใบที่ 3 ใช้เวลาน้อยที่สุด ในทำนองเดียวกันเหตุผลนี้น่าจะใช้อธิบายได้กับใบที่ 2 และ 3 เท่านั้น ที่ให้รากใหญ่ได้. ในขณะที่ใบที่ 3 และ 4 ก้านใบมีสีเหลืองซีดประมาณครึ่งหนึ่งของยอดใหม่ ที่เกิดขึ้นทั้งหมด นอกจากนี้ยังเกิดแคลลัสเกาะกันแน่นก้อนกลมผิวมันมีสีขาวที่ดูเหมือนจะเป็นคัพภะเทียม

## เอกสารอ้างอิง


พจนานุกรมฉบับบัณฑิตยสถาน. 2525. อักษรเจริญทัศน์จำกัด. กรุงเทพฯ. หน้า 410.

ศูนย์สนเทศการเกษตรและสหกรณ์. 2528. พืชสมุนไพร2. สำนักงานเกษตรภาคกลางจังหวัดชัยนาท. สำนักงานปลัดกระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 28

สุนทรี สิงหบุตรา. 2536. สรรพคุณสมุนไพร 200 ชนิด. พิมพ์ครั้งที่ 1. โอเอสพริ้นติ้งเฮ้าส์. กรุงเทพฯ. หน้า 99.

สะอาด ร่มรื่นสุขารมย์. 2533. การผลิตหัวย่อยของแกลดิโอลัส โดยการเพาะเลี้ยงก้านช่อดอกอ่อน. วิทยาการสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 18(1) : 11-25.

โสภณ สินธุประมา. 2528. สาคู. กสิกร. 57(2):84.

Everett, T.H. 1968. Encyclopedia of Gardening. Volume 21. Greystone Press, New York. p. 1,213.

Gonzalez, B.E. and P.G. Alderson. 1990. Regeneration from Alstroemeria callus. Acta. Hort. 280:135-138

Hulscher, M.,H.T.Krijgsheld and P.C.G. van der Linde. 1992. Propagation shoot and bulb growth of Tulip *in vitro*. Acta. Hort. 325(1):441-446.

Le Nard, M.and F. Chanteloube. 1992. *In vitro* culture of explants excised from growing stem of tulip (*Tulipa gesneriana* L.) : Problems related to bud and bulblet formation. Acta. Hort. 325:435-440

Rice, R. D. , P. G. Alderson and N. A. Wright. 1983. Induction of bulbing of tulip shoot *in vitro*. Scientia Hort. 20:377-390.