บทความวิจัย (Research Article)

# ผลร่วมของ α-naphthaleneacetic acid กับ $N^6$-benzyladenine ต่อการเพิ่มจำนวนยอดของผักโขม

# Combination effect of α-naphthaleneacetic acid with $N^6$-benzyladenine on multiplying shoots of Amaranth *in vitro* culture

มณฑล สงวนเสริมศรี[1], รัฐพร จันทร์เดช[2], พีระวุฒิ วงศ์สวัสดิ์[3], วารุต อยู่คง[4] และ ภพเก้า พุทธรักษ์[4*]

Mondhon Sanguansermsri[1], Ruttaporn Chundet[2], Pheravut Wongsawad[3], Warut U-kong[4] and Phopgao Buddharak[4*]

## บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงยอดอ่อนผักโขม (*Amaranthus lividus* Linn.) บนสูตรอาหาร Murashige and Skoog (MS, 1962) เติมร้อยละ 3 น้ำตาลซูโครส และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต α-naphthaleneacetic acids (NAA) ร่วมกับ $N^6$-benzyladenine (BA) ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าสูตรอาหาร MS สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ทุกการทดลอง แต่สูตรอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 6.0 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ

**คำสำคัญ:** การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, ผักโขม, สารควบคุมการเจริญเติบโต

## Abstract

Young shoots of Amaranth (*Amaranthus lividus* Linn.) were in vitro cultured on Murashige and Skoog (MS, 1962) medium supplemented with 3% sucrose and the combination of plant growth regulators, α-naphthaleneacetic acids (NAA) with $N^6$-benzyl Adenine (BA) in various concentrations for 6 weeks. The results showed that the shoots were induced in all MS medium treatments whereas the highest average number of shoots was (6.0 shoots per explants) obtained on the MS medium supplemented with 0.1 mg/l NAA and 0.3 mg/l BA.

**Keywords**: *In vitro* culture, amaranth, plant growth regulators, α-naphthaleneacetic acid

---

[1] คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา 56000, [2] คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ 50290

[3] คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดพะเยา 50200, [4*]คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา 56000

[1] School of Science, University of Phayao, Phayao Province 56000, [2] Faculty of Science, University of Maejo, Chiang Mai Province 56000

[3] Faculty of Science, University of Chang Mai, Chiang Mai Province 56000, [4*] School of Pharmaceutical Science, University of Phayao, Phayao Province 56000,

* Corresponding author E-mail: su_buddha@hotmail.com

Received: 25 February 2013; Accepted: 30 November 2013

## บทนำ

ผักโขม (*Amaranthus lividus* Linn.) เป็นพืชล้มลุกปีเดียว ลำต้นสีเขียว แตกกิ่งก้านสาขามาก ใบเป็นใบเดี่ยวรูปไข่ ใบออกแบบสลับ กว้าง 2.5 ถึง 8 เซนติเมตร ยาว 3.5 ถึง 12 เซนติเมตร ขอบใบเรียบ ดอกเป็นดอกช่อสีม่วงปนเขียว ออกตามซอกใบ เมล็ดสีน้ำตาล

ผักโขมเป็นพืชเศรษฐกิจ และพืชอาหารสำคัญ การศึกษาคุณค่าทางเศรษฐกิจของพืชเมืองร้อน ปี พ.ศ. 2518 โดยสภาวิจัยวิทยาศาสตร์แห่งชาติของสหรัฐอเมริกา (National Academy of Sciences - NAS) [10] ได้คัดเลือกผักโขมเป็นพืช 1 ใน 36 ชนิด สมควรทำการศึกษาวิจัยเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในอนาคต เนื่องจากผักโขมเป็นพืชล้มลุกอันอุดมไปด้วยสารอาหารต่างๆ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน ตลอดจนแร่ธาตุสำคัญหลายชนิด [6]

รายงานของ Natinal Research Council ระบุว่าใบผักโขมน้ำหนักแห้งมีโปรตีนร้อยละ 26.7 ไขมันร้อยละ 3.8 คาร์โบไฮเดรตละลายได้ร้อยละ 49.62 แคลเซียมร้อยละ 2.05 ฟอสฟอรัสร้อยละ 0.51 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนั้นยังประกอบด้วยธาตุเหล็ก 29.8 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และวิตามิน เอ 46,565 หน่วยสากล ต่อ100 กรัม [7] แม้ผักโขมเป็นผักใบเขียวทว่ามีเบต้าแคโรทีนสูง โดยมีสารลูทีนและสารเซอักแซนทิน อันเป็นสารแคโรทีนอนด์จำนวนมาก สารทั้งสองมีสรรพคุณช่วยชะลอความเสื่อมของดวงตา ลดความเสี่ยงจากภาวะดวงตาเสื่อมราวร้อยละ 43 อีกทั้งมีผลลดความเสี่ยงของการเกิดโรคอัลไซเมอร์ และมีสารซาโปนินช่วยลดคอลเลสเทอรอลในเลือดด้วย

การขยายพันธุ์ผักโขมใช้การเพาะเมล็ด แต่มักพบปัญหาเมล็ดเน่า โรคใบจุดจากเชื้อรา *Cercospora* sp. และ *Alternaria* sp. ทำให้เกิดจุดสีน้ำตาลทั่วทั้งใบในฤดูฝน ดังนั้นการขยายพันธุ์ผักโขมโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีให้จำนวนต้นเป็นจำนวนมากภายในระยะเวลาอันสั้น เริ่มต้นจากชิ้นส่วนเพียงเล็กน้อย และได้ต้นสมบูรณ์ปราศจากโรค เป็นวิธีการเหมาะสมสำหรับขยายพันธุ์ผักโขม จากการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดย Murashige and Skoog (1962) [9] พบว่าการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ หรือรากขึ้นอยู่กับความสมดุลของสารควบคุมการเจริญเติบโตระหว่างออกซิน (auxin) และไซโตไคนิน (cytokinin) พื้นฐานความรู้เกี่ยวกับอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญเติบโตของพืชเป็นผลให้ควบคุมการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อตามต้องการได้ ปัจจุบันสารควบคุมการเจริญเติบโตมีบทบาทสำคัญมากต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์พืช ส่วนสารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมใช้ คือ ไซโตไคนิน และออกซิน วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตไซโตไคนิน และออกซิน ต่อการชักนำให้เกิดยอดของผักโขม

## วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการศึกษา

### การเตรียมตัวอย่างพืช

ทำความสะอาดเมล็ดของผักโขมด้วยน้ำไหลฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ความเข้มข้นร้อยละ 15 นาน 15 นาที และ เติม Tween –20 จำนวน 2 ถึง 3 หยด ล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 3 ถึง 5 ครั้ง [1 - 5] หลังจากนั้นนำเมล็ดไปเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS [5] ไม่เติมสารควบคุมการเจริญ เติบโต เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ทำการเพาะเลี้ยง 3 สัปดาห์ เพื่อใช้เป็นตัวอย่างพืช

### การชักนำให้เกิดต้นจากยอดอ่อนผักโขม

ชักนำชิ้นส่วนยอดอ่อนของผักโขมสภาพปลอดเชื้อให้เกิดยอด โดยตัดให้ได้ขนาด 1 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิด BA ($N^6$-benzyladenine) ความเข้มข้น 0, 1.0, 3.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA (α-Napthaleneacetic acid) ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมลิตร ทำการทดลองทั้งหมด 10 ซ้ำ แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน วางแผนทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกข้อมูลเกี่ยวกับจำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนใบ และจำนวนราก วิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์ด้วยพิสัยเชิงพหุของดันแคน (Duncan's multiple range test)

**การปรับสภาพต้นอ่อนออกปลูกในโรงเรือน**

นำต้นผักโขมแข็งแรงและเกิดรากใหม่จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ปลูกลงดินร่วน ทราย และขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1: 1: 1 ในโรงเรือน รดน้ำชุ่มและใส่ถุงพลาสติกใส มัดปากถุงเพื่อรักษาความชื้น เป็นเวลานาน 3 สัปดาห์ ก่อนเจาะถุงเป็นรูขนาด 1 นิ้ว ทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ จากนั้นเปิดปากถุงไว้ 1 สัปดาห์ก่อนบันทึกข้อมูล

## ผลการศึกษา

**การเตรียมตัวอย่างพืช**

การชักนำเมล็ดของผักโขมให้เกิดต้นอ่อน พบว่า เมล็ดของผักโขมที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS เกิดเป็นต้นอ่อนเมื่อเพาะเลี้ยงเมล็ดนาน 3 สัปดาห์ ต้นอ่อนลักษณะเขียวพัฒนาเป็นต้นอ่อนสมบูรณ์ (ภาพที่ 1 A)

**การชักนำให้เกิดต้นจากยอดอ่อนผักโขม**

การชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนยอดอ่อนของผักโขม เมื่อเพาะเลี้ยงยอดอ่อนบนสูตรอาหาร MS เติมสาร BA ความเข้มข้น 0, 1.0, 3.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับสาร NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนยอดอ่อนของผักโขมสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ทุกสูตร โดยเฉพาะสูตรอาหาร MS เติมสาร BA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับสาร NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด 6.0 ยอดต่อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ หลังการเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์ (ตารางที่ 1, ภาพที่ 1 B)

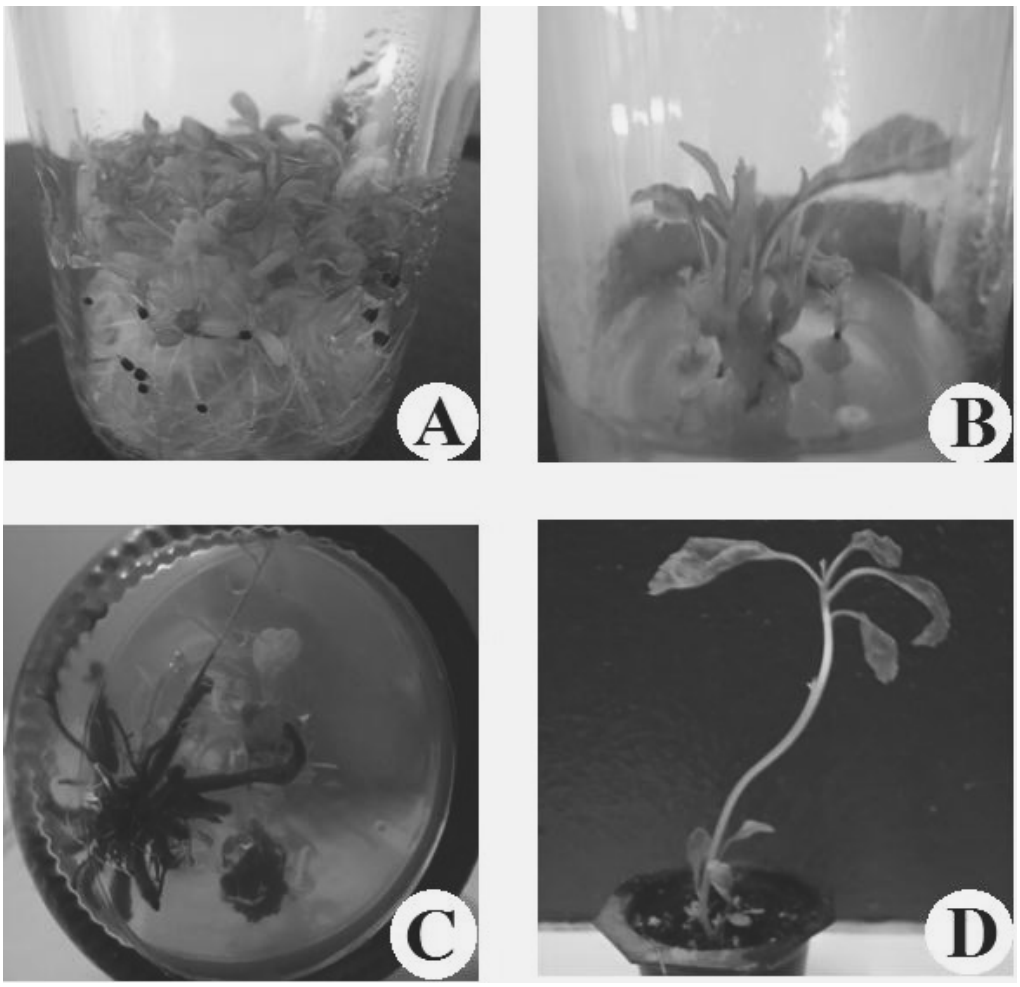
**การศึกษาการปรับสภาพต้นอ่อนออกปลูกในโรงเรือน**

นำต้นผักโขมแข็งแรงและเกิดรากใหม่จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (ภาพที่ 1 C) ปลูกลงดินร่วน ทราย และขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1: 1: 1 ใน สภาพแวดล้อมภายนอก เพื่อศึกษาอัตราการรอดชีวิต หลังย้ายปลูกนาน 5 สัปดาห์ พบว่า ต้นผักโขมเจริญเติบโตดีและแตกใบใหม่ เมื่อเวลาผ่านไปได้ประมาณ 2 สัปดาห์ อัตราการรอดชีวิตสูงสุดร้อยละ 80 หลังจากย้ายเลี้ยงเวลา 5 สัปดาห์ (ภาพที่ 1 D)

**ตารางที่ 1** การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยอดอ่อนบนสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตความเข้มข้นต่างๆ

| สาร BA (มก.ต่อลิตร) | สาร NAA (มก. ต่อลิตร) | จำนวนยอด | ความยาวยอด | จำนวนใบ | จำนวนราก |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 0 | 1.20 ± 0.200[a] | 1.60 ± 0.187[a] | 2.00 ± 0.00[a] | 4.80 ± 0.374[c] |
| 1.0 | 0.1 | 2.40 ± 0.244[b] | 2.30 ± 0.200[b] | 2.60 ± 0.244[b] | 2.00 ± 0.316[a] |
| 3.0 | 0.1 | 6.00 ± 0.447[c] | 4.56 ± 0.220[c] | 3.40 ± 0.244[b] | 3.40 ± 0.244[b] |
| 5.0 | 0.1 | 1.40 ± 0.244[a] | 1.50 ± 0.158[a] | 2.00 ± 0.00[a] | 2.20 ± 0.200[a] |

ตัวอักษรเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยการทดสอบแบบพิสัยเชิงพหุของดันแคน (Duncan's multiple range test)




**ภาพที่ 1** A.ต้นอ่อนเกิดจากเมล็ด B.จำนวนยอดเกิดบนสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร C.แสดงจำนวนราก D. การนำต้นสมบูรณ์ปลูกในกระถาง

## วิจารณ์และสรุปผล

เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดอ่อนบนอาหาร MS เติมสาร BA ความเข้มข้น 0, 1.0, 3.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับสาร NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ความเข้มข้นแตกต่างกันของสารควบคุมการเจริญเติบโตมีผลให้จำนวน และ ความยาวยอดของผักโขมแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยสูตรอาหาร MS เติมสาร BA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับสาร NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ยอดอ่อนผักโขมสร้างยอดเฉลี่ยสูงสุด 6.0 ยอดต่อเนื้อเยื่อ รองลงมาคือสาร BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับสาร NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้จำนวนยอด 2.4 ยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อ และที่สาร BA ความเข้มข้น 5.0 ร่วมกับสาร NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้จำนวนยอดจำนวนน้อย 1.4 ยอดต่อเนื้อเยื่อ เช่นเดียวกันกับงานวิจัยของ Ruot *et al* [11] Bhattacharya *et al* [7] ใช้สาร BA ร่วมกับสาร NAA ชักนำเกิดยอดจากตาข้างของ *Nyctanthes arbor-tristis* L. และ *Jasminum officinale* L. โดย Branca *et al* [8] รายงานว่าการใช้ไซโตไคนินร่วมกับออกซิน มผลในการเพิ่มจำนวนยอด

## เอกสารอ้างอิง


1. พีระวุฒิ วงศ์สวัสดิ์. การชักนำให้เกิดอวัยวะและต้นใหม่ของลำไย (*Euphoria longana* Lamk.) ในสภาพปลอดเชื้อ. [ปัญหาพิเศษปริญญาโท] สาขาวิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2534.
2. ภพเก้า พุทธรักษ์ และวารุต อยู่คง. การขยายพันธุ์โมกพวง พุดจีบ รักขาว และรักม่วงโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. 2555;4(7):7-13.
3. ภพเก้า พุทธรักษ์ และวารุต อยู่คง. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อน และปลายยอดโมกพวงในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารวิชาการเกษตร. 2554;29(3):1-6.
4. ภพเก้า พุทธรักษ์, จินตนา แก้วดวงติ๊บ และวารุต อยู่คง. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านสี่ทิศในสภาพและบอนสีในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารมหาวิทยาลัยนเรศวร. 2554;19(1):18-23.
5. มณฑล สงวนเสริมศรี, วารุต อยู่คง และภพเก้า พุทธรักษ์. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อนของบอนสีในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารนเรศวรพะเยา. 2554; 4(2):17-21.
6. Agricultural Research Council. The Nutrient Requirements of Pigs. UK: Agricultural Research Council; 1967.
7. National Research Council. Amaranth: Modern prospect for an ancient crop. Washington DC: National Academy Press; 1984.
8. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 1962;15:473-497.
9. Bhattacharya S, Bhattacharya S. Rapid multiplication of *Jasminum officinaie* L. by *in vitro* culture of nodal explants. Plant Cell, Tissue and Organ culture 1997; 51:57-60.
10. Branca C, Bucci G, Domiano P, Ricci A, Torelli A, Bassi M. Auxins structure and activity on tomato morphogenesis. Plant cell tissue and organ culture 1991;24(2): 105-114.
11. Rout GR, Mahato A, Senapati SK. *In vitro* clonal propagation of *Nyctanthes arbur-tristis*. Biologia Plantarum 2008;52(3):521-524.