



ISSN 1686-4522

KOCH CHA SARN JOURNAL OF SCIENCE

Vol. 44 (1); January-June (2022), pp. 1-13

<https://science.srru.ac.th/kochasarn>

Research Article

In Vitro Propagation of *Kaempferia koratensis* Pichens., an Endemic Plant of Thailand

การขยายพันธุ์ในหลอดทดลองของเปราะโคราช (*Kaempferia koratensis* Pichens.) พืชถิ่นเดียวของประเทศไทย

สิทธิศักดิ์ สกลวรรณ^{1,3,4}, สุรพล แสนสุข^{2,3,4} และปิยะพร แสนสุข^{1,3,4*}

Saliwan, S.^{1,3,4}, Saensouk, S.^{2,3,4}, & Saensouk, P.^{1,3,4*}

¹ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ต.ขามเรียง อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

²สถาบันวิจัยยุวรุทเวช มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ต.ขามเรียง อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

³หน่วยวิจัยอนุกรมวิธานพืชและสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังและการประยุกต์ใช้ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม 44150

⁴ศูนย์วิจัยเฉพาะทางความหลากหลายพืชวงศ์ขิงและพืชที่มีต่อลำเลียงเพื่อการประยุกต์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ต.ขามเรียง อ.กันทรวิชัย จ.มหาสารคาม 44150

Article Info

Received 31 January 2022

Revised 8 March 2022

Accepted 22 April 2022

Abstract

This research studied a propagation protocol for *Kaempferia koratensis* Pichens. which is an endangered plant of Thailand using plant tissue culture technique. Microshoot (1 cm long) of *K. koratensis* was cultured on solid and liquid Murashige and Skoog (MS) supplemented with various concentrations of auxin, cytokinin and their combinations for eight weeks. The results showed that the highest number of shoots and roots were 4.0 shoots/explant and 8.60 roots/explant when the microshoot was cultured on solid MS medium added with 4 mg/l BA plus 0.2 mg/l NAA. In liquid MS medium, the best result for shoot multiplication was 6.0 shoots/explant achieved on MS medium supplemented with 1 mg/l Kinetin, 2 mg/l TDZ and 0.2 mg/l NAA. The *in vitro* derived plantlets of *K. koratensis* Pichens, were transplanted to a pot containing soil, sand and soil:sand (1:1) in a greenhouse. The survival rates were 100% when *K. koratensis* Pichens. was transplanted to all potting mixture.

Keywords: Plant tissue culture, *Kaempferia koratensis* Pichens., Transplantation, Endemic plant

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาวิธีการขยายพันธุ์เปราะโคราช (*Kaempferia koratensis* Pichens.) ซึ่งเป็นพืชถิ่นเดียวของประเทศไทยด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ต้นอ่อนเปราะโคราช (ขนาด 1 ซม.) มาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งและอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนออกซิน ไซโทไคนิน และเติมฮอร์โมนร่วมกันที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบจำนวนยอดและจำนวนรากมากที่สุด 4.0 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และ 8.60 ราก/ชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA 4.0 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล. ในอาหารเหลวสูตร MS พบการเกิดยอดมากที่สุด 6.0 ยอด/ชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin 1.0 มก./ล. TDZ 2.0 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล. ต้นอ่อนเปราะโคราชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนำมาย้ายปลูกในกระถางที่มีดินร่วนดินทราย และดินร่วนผสมดินทราย (1:1) ภายในเรือนเพาะชำ พบอัตราการรอดชีวิตของต้นอ่อนเปราะโคราช 100% เมื่อย้ายปลูกในวัสดุทุกชนิด

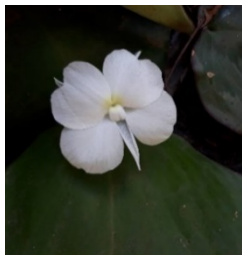
คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช, เปราะโคราช, การย้ายปลูก, พืชถิ่นเดียว

1. บทนำ

พืชสกุลเปราะ (*Kaempferia* L.) เป็นไม้ล้มลุก มีเหง้า สูง 20-30 ซม. ใบเดี่ยว มี 2-4 ใบ ตั้งตรง รูปรีหรือแกมรูปหอก กว้าง 5-8 ซม. ยาว 15-25 ซม. บางชนิดปลายใบแหลม บางชนิดใบแผ่ราบตามพื้นดิน โคนใบสอบ ดอกออกเป็นช่อสั้นจากเหง้าใต้ดินก่อนแทงใบ มีกาบใบหุ้มช่อดอก 2-3 ใบ ดอกบานกว้าง 2.5-3 ซม. กลีบรองดอกเชื่อมกันเป็นหลอด ยาว 3-3.2 ซม. กลีบดอกเป็นหลอด ยาว 5-5.5 ซม. ปลายแผ่แยก 3 แฉก รูปขอบขนาน กลีบปากมีสีส้มต่าง ๆ ตามชนิด ยาว 4 ซม. กว้าง 2-3 ซม. แบ่งเป็น 2 พู รูปรี ปลายมน รอยเว้าระหว่างพูลึกมาก เกสรเพศผู้ที่เป็นหมันสีขาว ปลายมนกลม เกสรเพศผู้ที่สมบูรณ์ ก้านชูสั้น ปลายมี 3 พู รังไข่มีขนสั้น ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพืชสกุลเปราะบางชนิดมีใบแหลมตั้งขึ้น บางชนิดมีใบแผ่แบนราบไปตามพื้นดิน

[1] ปัจจุบันในประเทศไทยมีรายงานพบพืชสกุลเปราะทั้งหมด 40 ชนิด

[2] เปราะโคราช (*Kaempferia koratensis* Pichens.) (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 เปราะโคราช (*Kaempferia koratensis*) (สเกล 1 ซม.)

เป็นพืชวงศ์ขิง สกุลเปราะ เป็นไม้ล้มลุก มีหลายเหง้า มี 2 ใบ แผ่แบนราบกับพื้นคล้ายใบมิติ ใบหนา สีเขียวเข้ม ผิวใบด้านล่างมีขน ใบ

ประดับเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า มีขน ปลายแหลม ขอบใบประดับแยกออกจากกัน หลอดกลีบเลี้ยงยาว 3.1-4.5 ซม. เกสรเพศผู้รูปไข่ สีขาวเป็นหมัน ลักษณะเกสรเพศผู้ของเปราะโคราช มี 6 อัน โดยแบ่งเป็น 1 อันยังสมบูรณ์สามารถสืบพันธุ์ได้ ส่วนอีก 5 อันเป็นหมัน เปลี่ยนแปลงเป็นส่วนที่คล้ายกลีบดอก กลีบปากปลายสีขาวมีสีเหลืองที่ฐาน กว้าง 2.2-2.7 ซม. ปลายแหลมโค้งมน อับเรณูรูปไข่ ยาว 8-12 มม. เกสรเพศเมียรูปกรวย รังไข่มีขนาด 4x2 มม. ออกดอกและติดผลในเดือนมิถุนายนจนถึงเดือนกันยายน [3] เนื่องจากใบของเปราะโคราชมีขนาดใหญ่ และมีกลิ่นหอม จึงมีการนำ ใบอ่อนมารับประทานเป็นผักสดหรือใช้เป็นเครื่องเคียงในอาหารพื้นบ้าน เช่น หมกหน่อไม้ หมกปลา เป็นต้น จากการรายงานของ Pichensoonthon [3] กล่าวว่าเปราะโคราชมีสถานภาพเป็นพืชถิ่นเดียว (endemic plant) ซึ่งสามารถพบได้แค่ที่เดียวในโลก นั้นหมายความว่าเปราะโคราชสามารถพบได้เฉพาะที่ประเทศไทย ในพื้นที่จังหวัดนครราชสีมาทำให้พืชชนิดนี้มีการกระจายพันธุ์ได้น้อยรวมทั้งพืชชนิดนี้ยังถูกรบกวนจากกิจกรรมต่าง ๆ ของมนุษย์ทำให้มีโอกาสที่จะสูญพันธุ์ได้ง่าย โดยทั่วไปเปราะโคราชสามารถขยายพันธุ์ได้เฉพาะฤดูฝนโดยการใช้เหง้าหรือเมล็ดเท่านั้น (ประมาณเดือนพฤษภาคม-สิงหาคม) หลังจากนั้นพืชชนิดนี้จะมีการพักการเจริญเติบโต หรือที่เรียกว่ามีการลงหัวทำให้การขยายพันธุ์พืชชนิดนี้ในแต่ละปีทำได้ไม่มาก ดังนั้นเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชจึงถูกนำมาใช้ในการขยายพันธุ์พืชที่มีจำนวนน้อยรวมถึงเป็นการอนุรักษ์พันธุ์กรรมพืชถิ่นเดียวของไทยไม่ให้สูญพันธุ์ เนื่องจากเทคนิคนี้สามารถขยายพันธุ์พืชได้ตลอดทั้งปี โดยไม่มีข้อจำกัดเรื่องฤดูกาลในการขยายพันธุ์ ได้ต้นพืชปลอดเชื้อโรคจำนวนมาก รวมถึงพืชต้นใหม่ที่ได้อาจมีลักษณะพันธุ์กรรมเหมือนต้นแม่ มีรายงานการเพาะเลี้ยงพืชสกุล

เพราะในหลอดทดลองแล้วหลายชนิด เช่น *Kaempferia angustifolia* [4,5], *K. galanga* [6-11], *K. larsenii* [12], *K. marginata* [13], *K. pandurata* [14], *K. parviflora* [15-18] และ *K. rotunda* [19-20] แต่ยังไม่มียางานการเพาะเลี้ยงเพราะโคราชมาก่อน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นรายงานแรกที่ศึกษาวิธีการขยายพันธุ์เพราะโคราชในหลอดทดลอง ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการเพาะเลี้ยงพืชสกุลเพราะชนิดอื่น ๆ รวมทั้งเป็นข้อมูลที่น่าไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์หรือการวิจัยด้านอื่น ๆ ต่อไป

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาการเพาะเลี้ยงเพราะโคราชในอาหารแข็งและอาหารเหลว ที่เติมฮอร์โมนออกซินและไซโทไคนินที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน รวมถึงศึกษาการย้ายต้นอ่อนเพราะโคราชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในเรือนชำ

2. วิธีการทดลอง

2.1 การฟอกฆ่าเชื้อ

เก็บตัวอย่างเพราะโคราชจากจังหวัดนครราชสีมา นำผลเพราะโคราชขนาดความกว้าง 1 ซม. ยาว 1.5 ซม. มาล้างด้วยน้ำประปาให้สะอาด จากนั้นนำผลเพราะโคราชไปฟอกฆ่าเชื้อภายในตู้ปลอดเชื้อโดยนำผลแช่ในเอทิลแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 1 นาที นำผลมาฟอกฆ่าเชื้อด้วย sodium hypochlorite ความเข้มข้น 15% และ 10% (ปริมาตร/ปริมาตร) เป็นเวลา 15 นาที และ 10 นาที ตามลำดับ เติม Tween 20 จำนวน 2 หยด เขย่าให้เข้ากัน แล้วย้ายชิ้นส่วนผลไปล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที เพื่อล้างสารฆ่าเชื้อออกให้หมด

2.2 การชักนำให้เกิดยอดที่ปลอดเชื้อ

ใช้มีดผ่าตัดฆ่าผลเพราะโคราชที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อตามแนวยาว นำเมล็ดขนาด 0.2 ซม. สีครีม มาเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิดยอดในอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) [21] ที่เติมฮอร์โมน Benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 2 มก./ล. ร่วมกับ Naphthaleneacetic acid (NAA) ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. น้ำตาลซูโครส 30 ก. วัน 7 ก. ปรับค่าความเป็น กรด-ด่าง 5.7-5.8 นำอาหารที่เตรียมไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที พืชทั้งหมดในการทดลองครั้งนี้นำไปเพาะเลี้ยงภายในห้องเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ได้รับความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ นาน 16 ชั่วโมง/วัน จากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์สีขาว

2.3 การเพิ่มจำนวนพืชที่ทดลอง

ต้นเพราะโคราชที่ได้จากขั้นตอนการชักนำให้เกิดยอดมีจำนวนน้อยจึงเพิ่มจำนวนต้นพืช โดยนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรเดิมที่ใช้ในการชักนำให้เกิดยอด โดยการตัดแยกต้นอ่อนเป็นต้นเดี่ยว ทำการเพิ่มจำนวนโดยนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารใหม่ เพาะเลี้ยงรอบละ 4 สัปดาห์ เพิ่มปริมาณ 3 รอบ เมื่อได้ต้นเพราะโคราชปริมาณมากพอนำพืชที่เพิ่มจำนวนได้ย้ายลงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนเพื่อทำการปรับสภาพเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จึงนำไปทำการทดลองในขั้นตอนต่อไป

2.4 การศึกษาผลของฮอร์โมน BA, BA ร่วมกับ NAA หรือ TDZ ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดและรากในเพราะโคราชเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง

นำต้นอ่อนขนาดประมาณ 1 ซม. ที่ปลอดเชื้อในหลอดทดลองมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 1, 2 และ 4 มก./ล. เพียงชนิดเดียว หรือฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 1, 2 และ 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 มก./ล. หรือ Thidiazuron (TDZ) ความเข้มข้น 1 มก./ล. รวมทั้งหมด 13 หน่วยทดลอง ทำการทดลอง 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ขวด โดย 1 ขวด เพาะเลี้ยงต้นอ่อน 1 ชิ้น เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ดำเนินการบันทึกผลการเจริญเติบโต เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย

2.5 การศึกษาผลร่วมระหว่างฮอร์โมนออกซินและไซโทไคนินที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดและรากในเพราะโคราชที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว

นำต้นอ่อนเพราะโคราชขนาดประมาณ 1 ซม. มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 มก./ล. และ 6-Furfuryl amino purine (Kinetin) ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 มก./ล. ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ล. และ NAA ความเข้มข้น 0.2 มก./ล. รวมเป็น 5 หน่วยทดลอง เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวโดยใช้ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล. ที่มีอาหารเหลว 100 มล. โดย 1 ขวด เพาะเลี้ยงต้นอ่อน 3 ต้น เพาะเลี้ยง 5 ซ้ำ นำเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวไปวางบนเครื่องเขย่า (shaker) เขย่าด้วยความเร็ว 120 รอบต่อนาที เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ดำเนินการบันทึกผลการเจริญเติบโต เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย

2.6 การศึกษาการย้ายต้นอ่อนเปราะโคราชออกปลูกในเรือนเพาะชำ

นำต้นเปราะโคราชที่เจริญเต็มที่ในหลอดทดลองขนาดประมาณ 7 ซม. ที่มีต้น ใบและรากสมบูรณ์แข็งแรงทำการย้ายไปเพาะเลี้ยงในอาหารใหม่สูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนเพื่อปรับสภาพพืช เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จากนั้นนำต้นพืชที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองมาปรับสภาพภายนอกห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ไม่มีการควบคุมปัจจัยภายนอกเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ นำพืชที่ปรับสภาพแล้วย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำในเดือนมิถุนายน-กรกฎาคม โดยพืชหนึ่งต้นปลูกในกระถางดำที่มีวัสดุปลูกเพียง 1 ต้น มีการควบคุมความชื้นและแสงให้กับต้นพืช ปลูกเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ในวัสดุปลูก 3 ชนิด ได้แก่ ดินร่วน ดินทราย และดินร่วนผสมดินทราย รดน้ำวันละ 1 ครั้ง ครั้งละ 100 มล. เวลาเช้า (9.00-10.00 น.) ดำเนินการบันทึกผลการเจริญเติบโต ร้อยละของการรอดชีวิต จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ย ความกว้างใบเฉลี่ย ความยาวใบเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย ความยาวรากเฉลี่ย จำนวนรากสะสมอาหารเฉลี่ย และความยาวรากสะสมอาหารเฉลี่ย

2.7 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete Randomized Design, CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยตาราง ANOVA และวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 15

3. ผลการทดลอง

3.1 การชักนำให้เกิดยอดปลอดเชื้อ และการเพิ่มปริมาณพืชทดลอง

เมื่อเพาะเลี้ยงเมล็ดเปราะโคราชในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยง 1 สัปดาห์ เริ่มเกิดยอดเกิดขึ้น มีอัตราการเกิดยอดที่สูง มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ไม่เกิน 5% ของเมล็ดที่เพาะเลี้ยงทั้งหมด เมื่อเพาะเลี้ยงผ่านไป 4 สัปดาห์ได้ต้นอ่อนที่มีลักษณะที่แข็งแรง ยอดมีขนาดใหญ่ สีเขียวเข้ม ใบมีขนาดใหญ่ บางเมล็ดมี 2 ยอด รากมีขนาดใหญ่ สีขาว แข็งแรง มีจำนวนมาก เนื่องจากเมล็ดเปราะโคราชที่นำมาเพาะเลี้ยงมีจำนวนน้อย จึงนำยอดเปราะโคราชมาเพิ่มจำนวนโดยนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมโดยการย้ายเนื้อเยื่อทุก 4 สัปดาห์

ทำ 3 รอบ จนได้ต้นพืชจำนวนมากแล้วนำต้นอ่อนเปราะโคราชย้ายมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อล้างอิทธิพลของฮอร์โมน BA และ NAA ก่อนนำพืชไปทำการทดลอง

3.2 การศึกษาผลของฮอร์โมน BA, BA ร่วมกับ NAA หรือ TDZ ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดและรากในเปราะโคราชเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง

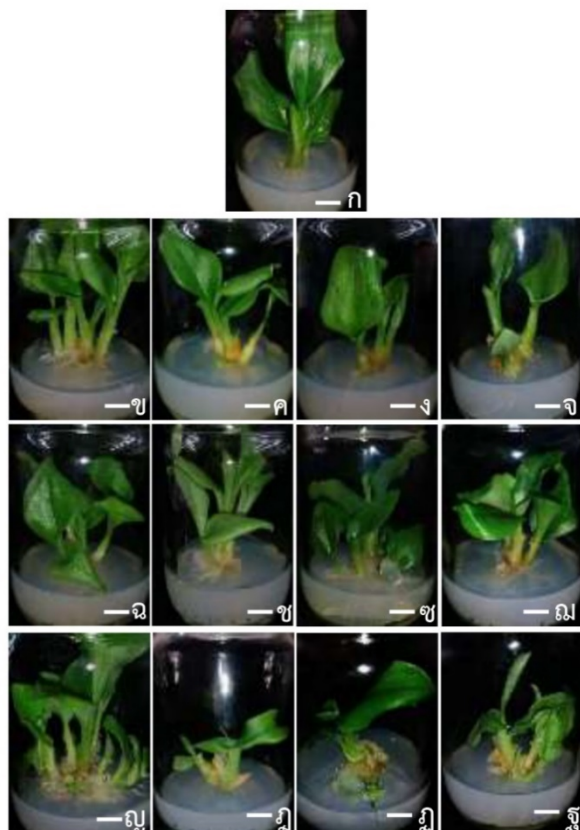
จากการนำต้นอ่อนเปราะโคราชขนาดประมาณ 1 ซม. มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. และ 0.2 มก./ล. หรือ TDZ ความเข้มข้น 1 มก./ล. เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติมฮอร์โมนไม่ค่อยเพิ่มจำนวนยอด มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.30 ยอด/ชิ้นส่วนพืช เพิ่มจำนวนยอดน้อยได้น้อยที่สุดจากการเพาะเลี้ยงทั้งหมด 13 หน่วยทดลอง ต้นโต สูง มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.28 ซม. จำนวนราก 4.50 ราก/ชิ้นส่วนพืช และความยาวราก 2.69 ซม. ต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.2 มก./ล. มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.00 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอด 3.79 ซม. และมีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 8.60 ราก/ชิ้นส่วนพืช ความยาวราก 2.52 ซม. (ตารางที่ 1 และภาพที่ 2 และ 3) ลักษณะของลำต้นและใบมีขนาดเล็ก สีเขียวสดใบแผ่ออกรากมีสีเขียวขนาดเล็ก มีจำนวนมาก ต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.2 มก./ล. มีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 4.28 ซม. เมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเปราะโคราชในอาหารที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 1-4 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 1 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล. พบว่าต้นอ่อนที่เกิดขึ้นใหม่ในหลอดทดลองค่อนข้างมีความยาวยอดสั้น เกิดรากน้อยมาก (2.10-2.60 ราก) และรากมีขนาดสั้น (1.52-1.62 ซม.) เมื่อเปรียบเทียบกับหน่วยทดลองอื่น ๆ เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าจำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ยและความยาวรากเฉลี่ย มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 1 ผลของฮอร์โมน BA, BA ร่วมกับ NAA หรือ TDZ ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการชักนำให้เกิดยอดและรากในเปราะโคราช เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ฮอร์โมนพืช (มก./ล.)	จำนวนยอด (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอด (ซม.)	จำนวนราก (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวราก (ซม.)
MS (control)	1.30±0.15 ^c	4.82±0.27 ^a	4.50±0.90 ^{cde}	2.69±0.14 ^{bc}
BA				
1	3.10±0.23 ^{ab}	4.35±0.42 ^{ab}	6.30±1.26 ^{abc}	3.48±0.27 ^a
2	3.00±0.33 ^{ab}	3.78±0.13 ^{bcd}	5.30±1.06 ^{abc}	2.71±0.17 ^{bc}
4	2.90±0.17 ^{ab}	3.87±0.25 ^{bcd}	4.00±0.47 ^{cde}	2.63±0.18 ^{bc}
BA+NAA				
1+0.1	2.70±0.26 ^b	3.99±0.26 ^{abc}	5.35±0.38 ^{bc}	3.02±0.19 ^{ab}
2+0.1	3.20±0.36 ^{ab}	4.20±0.20 ^{ab}	4.80±0.65 ^{cd}	3.01±0.14 ^{ab}
4+0.1	3.30±0.26 ^{ab}	4.02±0.17 ^{abc}	6.10±0.85 ^{abc}	2.00±0.14 ^{de}
1+0.2	3.20±0.63 ^{ab}	4.11±0.30 ^{ab}	7.70±0.97 ^{ab}	2.78±0.24 ^{bc}
2+0.2	3.30±0.40 ^{ab}	3.20±0.24 ^{cde}	5.70±0.73 ^{bc}	2.23±0.17 ^{cd}
4+0.2	4.00±0.70 ^a	3.79±0.33 ^{bcd}	8.60±1.44 ^a	2.52±0.11 ^{bcd}
BA+TDZ+NAA				
1+1+0.2	2.50±0.37 ^b	2.31±0.11 ^f	2.10±0.31 ^e	1.52±0.16 ^e
2+1+0.2	2.30±0.33 ^{bc}	3.11±0.32 ^{de}	2.10±0.43 ^e	1.54±0.30 ^e
4+1+0.2	2.90±0.27 ^{ab}	2.83±0.24 ^{ef}	2.60±0.67 ^{de}	1.62±0.30 ^e

หมายเหตุ: - ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean±SE)

- อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

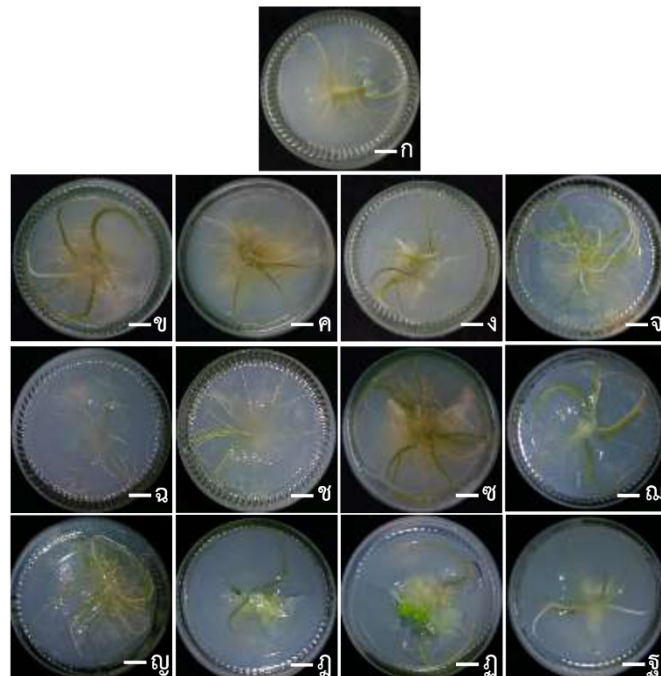


ภาพที่ 2 การเจริญของยอดเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA, BA ร่วมกับ NAA หรือ TDZ ความเข้มข้นแตกต่างกัน เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (สเกล 1 ซม.)

(ก) ไม่เติมฮอร์โมน, (ข) BA 1 มก./ล., (ค) BA 2 มก./ล., (ง) BA 4 มก./ล., (จ) BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.1 มก./ล., (ฉ) BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.1 มก./ล., (ช) BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.1 มก./ล., (ซ) BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.2 มก./ล., (ญ) BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.2 มก./ล., (ฎ) BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.2 มก./ล., (ฏ) BA 1 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 1 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล., (ฐ) BA 2 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 1 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล. และ (ฑ) BA 4 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 1 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล.

3.3 การศึกษาผลร่วมระหว่างฮอร์โมนออกซินและไซโทไคนินที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดและรากเปราะโคราชเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว

จากการนำต้นอ่อนเปราะโคราชนาขนาดประมาณ 1 ซม. มาเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพูนขนาด 250 มล. ในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA และ Kinetin ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 มก./ล. ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ล. และ NAA ความเข้มข้น 0.2 มก./ล. เพาะเลี้ยง

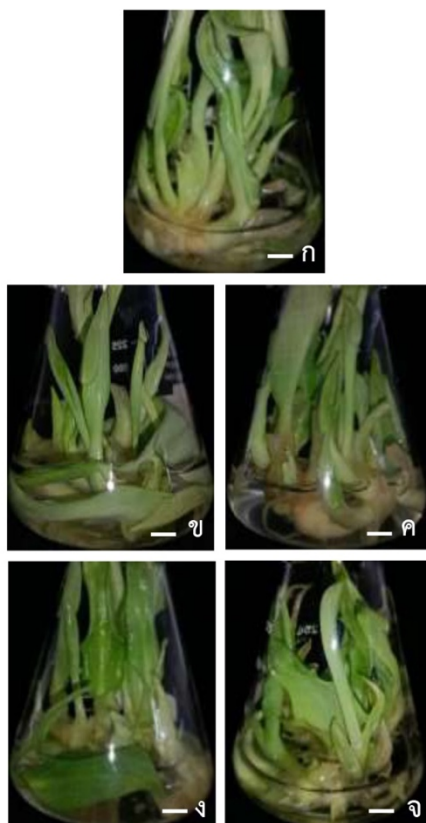


ภาพที่ 3 การเจริญของรากเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA, BA ร่วมกับ NAA หรือ TDZ ความเข้มข้นแตกต่างกัน เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (สเกล 1 ซม.)

(ก) ไม่เติมฮอร์โมน, (ข) BA 1 มก./ล., (ค) BA 2 มก./ล., (ง) BA 4 มก./ล., (จ) BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.1 มก./ล., (ฉ) BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.1 มก./ล., (ช) BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.1 มก./ล., (ซ) BA 1 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.2 มก./ล., (ญ) BA 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.2 มก./ล., (ฎ) BA 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.2 มก./ล., (ฏ) BA 1 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 1 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล., (ฐ) BA 2 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 1 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล. และ (ฑ) BA 4 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 1 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล.

บนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนมีจำนวนยอดเฉลี่ย 4.10 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ใบสีเขียวเข้มสด แข็งแรง ใบพอมยาวขนานกับความสูงของขวดรูปชมพู่ มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 9.08 ซม. จำนวนราก 6.87 ราก/ชิ้นส่วนพืช และความยาวราก 2.72 ซม. ในขณะที่ต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน Kinetin ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 2 มก./ล. และ NAA ความเข้มข้น 0.2 มก./ล. พบว่ามีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 6.00 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอด 5.27 ซม. จำนวนราก 2.87 ราก/ชิ้นส่วนพืช ความยาวราก 3.48 ซม. ลักษณะของลำต้นและใบมีขนาดค่อนข้างใหญ่ มียอดขนาดเล็กจำนวนมาก ลำต้นเทียมมีขนาดใหญ่ สีเขียวสด ต้นอ่อนที่

เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ล. และ NAA ความเข้มข้น 0.2 มก./ล. มีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 7.40 ราก/ชิ้นส่วนพืช ความยาวราก 2.85 ซม. ลักษณะของรากมีสีเขียวเข้ม มีขนาดใหญ่ ต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 2 มก./ล. ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ล. และ NAA ความเข้มข้น 0.2 มก./ล. มีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 3.80 ซม. (ตารางที่ 2 และ ภาพที่ 4) เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าจำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 4 ยอดเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่เติม BA และ Kinetin ร่วมกับ TDZ และ NAA เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ (สเกล 1 ซม.)

(ก) ไม่เติมฮอร์โมน, (ข) BA 1 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 2 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล., (ค) BA 2 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 2 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล., (ง) Kinetin 1 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 2 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล. และ (จ) Kinetin 2 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 2 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล.

3.4 การศึกษาการย้ายต้นอ่อนเปราะโคราชออกปลูกในเรือนเพาะชำ

ต้นอ่อนเปราะโคราชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช อายุ 8 สัปดาห์ สูงประมาณ 8 ซม. ที่ปรับสภาพแล้วนำมาย้ายออกปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ในวัสดุปลูก 3 ชนิด คือ ดินร่วน ดินทราย และดินร่วนผสมดินทราย (1:1) พบว่าเมื่อเริ่มย้ายปลูกเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ต้นอ่อนมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี และเริ่มมีการกางใบในสัปดาห์ที่ 2 ต้นโต มีการขยายขนาด และเริ่มมียอดใหม่เกิดขึ้น ต้นอ่อนเปราะโคราชที่ย้ายปลูกในดินร่วน ดินทราย และดินร่วนผสมดินทราย มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 100% ต้นพืชที่ปลูกในดินร่วนผสมดินทรายมีการเกิดยอดมากที่สุด 1.70 ยอด/ต้น และมีจำนวนรากมากที่สุด 6.20 ราก/ชิ้นส่วนพืช ต้นอ่อนเปราะโคราชที่ย้ายปลูกในดินร่วนมีจำนวนใบและความกว้างของใบมากที่สุด 2.54 ใบ/ต้น และ 3.66 ซม. ตามลำดับ ต้นอ่อนเปราะโคราชที่ปลูกในดินทรายมีความยาวยอดมากที่สุด 9.10 ซม. และมีความยาวของใบมากที่สุด 7.18 ซม. (ตารางที่ 3 และภาพที่ 5) ต้นพืชที่ปลูกในดินร่วน พบว่ามีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด 3.32 ซม. นอกจากนี้ในการทดลองย้ายต้นอ่อนเปราะโคราชออกปลูกในครั้งนี้เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ต้นพืชมีการเกิดราก และพบมีการสร้างรากสะสมอาหารเมื่อย้ายปลูกในวัสดุปลูกทุกประเภท เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าจำนวนยอด ความยาวใบ จำนวนราก ความยาวราก และความยาวรากสะสมอาหาร มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 2 ผลของฮอร์โมน BA, Kinetin ร่วมกับ TDZ และ NAA ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการชักนำให้เกิดยอดและรากของเปราะโคราชเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ฮอร์โมนพืช (มก./ล.)	จำนวนยอด (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอด (ซม.)	จำนวนราก (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวราก (ซม.)
MS (control)	4.10±0.57 ^b	9.08±0.71 ^a	6.87±1.18 ^a	2.72±0.26 ^b
BA 1+TDZ 2+NAA 0.2	5.27±0.34 ^a	6.60±0.42 ^b	7.40±0.93 ^a	2.85±0.37 ^b
BA 2+TDZ 2+NAA 0.2	5.20±0.67 ^a	5.67±0.32 ^b	4.60±0.51 ^b	3.80±0.40 ^a
Kinetin 1+TDZ 2+NAA 0.2	6.00±0.72 ^a	5.27±0.40 ^b	2.87±0.38 ^{bc}	3.46±0.21 ^{ab}
Kinetin 2+TDZ 2+NAA 0.2	5.33±0.45 ^a	6.17±0.33 ^b	2.33±0.45 ^c	2.54±0.32 ^b

หมายเหตุ: - ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean±SE)

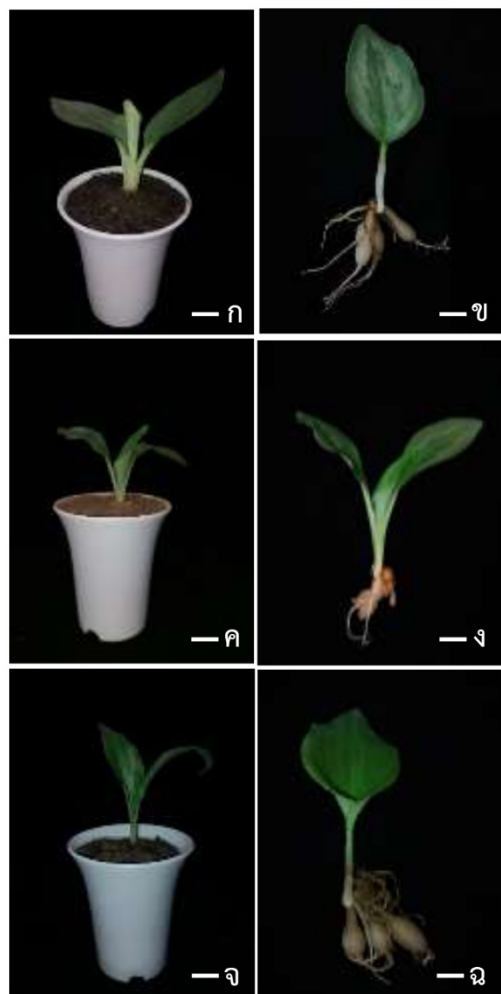
- อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

ตารางที่ 3 การย้ายต้นอ่อนเปราะโคราชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 8 สัปดาห์

วัสดุปลูก	เปอร์เซ็นต์ การรอด ชีวิต (%)	จำนวน ยอด(ซม.)	ความยาว ยอด (ซม.)	จำนวนใบ (ใบ/ต้น)	ความกว้างใบ (ซม.)	ความยาว ใบ (ซม.)	จำนวนราก (ราก/ต้น)	ความยาวราก (ซม.)	จำนวนราก สะสม อาหาร (ราก/ต้น)	ความยาวราก สะสมอาหาร (ซม.)
ดินร่วน	100	1.20±0.13 ^b	8.15±0.59 ^a	2.54±0.40 ^a	3.66±0.30 ^a	5.8±0.44 ^b	3.20±0.30 ^b	3.32±0.52 ^a	3.00±0.033 ^a	2.70±0.14 ^a
ดินทราย	100	1.10±0.32 ^b	9.10±1.02 ^a	2.50±0.17 ^a	3.03±0.24 ^a	7.18±0.50 ^a	4.10±0.45 ^b	2.13±0.52 ^b	2.60±0.50 ^a	1.45±0.32 ^b
ดินร่วน ผสมดิน ทราย	100	1.70±0.15 ^a	8.60±0.85 ^a	2.10±0.10 ^a	3.38±0.23 ^a	6.25±0.37 ^{ab}	6.20±0.33 ^a	2.31±0.30 ^{ab}	3.60±0.37 ^a	2.12±0.24 ^{ab}

หมายเหตุ: - ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean±SE)

- อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT



ภาพที่ 5 ต้นอ่อนเปราะโคราชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อย้ายปลูกในเรือนเพาะชำในดินร่วน ดินทราย และดินร่วนผสมดินทราย (สเกล 1 ซม.)

(ก)-(ข) ปลูกในดินร่วน, (ค)-(ง) ปลูกในดินทราย และ (จ)-(ฉ) ปลูกในดินร่วนผสมดินทราย

4. วิจัยการทดลอง

จากการศึกษาการนำต้นอ่อนเปราะโคราช มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA, BA ร่วมกับ NAA และ TDZ ความเข้มข้นแตกต่างกันเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.2 มก./ล. มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.00 ยอด/ชิ้นส่วนพืช แตกต่างจาก Mohanty *et al.* [22] เพาะเลี้ยง *Kaempferia galanga* บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 1 มก./

ล. ร่วมกับ IAA 0.5 มก./ล. พบอัตราการเกิดยอดสูงสุด 11.50 ยอด/ชิ้นส่วนพืช แตกต่างจากงานวิจัยของ Parida *et al.* [23] เพาะเลี้ยงตาเหง้า *K. galanga* บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 1 มก./ล. ร่วมกับ IAA 0.5 มก./ล. ชักนำให้เกิดยอดสูงสุด 10.10 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ลักษณะของลำต้นและใบมีขนาดเล็ก สีเขียวสดใบแผ่ออกเนื่องจากฮอร์โมน BA เป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโทไคนินจะป้องกันไม่ให้คลอโรฟิลล์ถูกทำลายได้ง่าย การสังเคราะห์คลอโรฟิลล์เพิ่มมากขึ้นส่งเสริมการสร้าง RNA และเอนไซม์ ต้นอ่อนจึงมีสีเขียวเข้ม [24,25] ต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.82 ซม. อาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 4 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.2 มก./ล. มีการชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยสูงสุด 8.60 ราก/ชิ้นส่วนพืช แตกต่างจากจิราภรณ์ และคณะ [12] เพาะเลี้ยงเปราะราศี (*K. larsenii*) บนอาหารสูตร MS ที่เติม IAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยสูงสุด 10.60 ราก/ชิ้นส่วนพืช และแตกต่างจาก Bhatt *et al.* [26] เพาะเลี้ยง *K. galanga* บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 5 มก./ล. และน้ำตาลซูโครส 30 ก. สามารถชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยสูงสุด 31.30 ราก/ชิ้นส่วนพืช จากการทดลองในครั้งนี้จะเห็นว่าต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA ร่วมกับ NAA และ TDZ มีจำนวนรากและความยาวรากที่น้อย ต้นอ่อนที่ได้มีขนาดเล็กเมื่อเปรียบเทียบกับต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA เพียงชนิดเดียวหรืออาหารที่เติม BA ร่วมกับ NAA ที่ต้นอ่อนมีขนาดใหญ่ ใบขนาดใหญ่ สีเขียวสด จำนวนรากและความยาวรากมากกว่า มีรากแข็งแรงจำนวนมาก เนื่องจากฮอร์โมน TDZ เป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโทไคนินมีผลทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ และชักนำให้เกิดต้นพิเศษ แต่จะยับยั้งการเกิดราก และความยาวยอด [27]

จากการศึกษาการนำต้นอ่อนเปราะโคราช มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA และ Kinetin ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 2 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล. เมื่อเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน Kinetin ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ล. และ NAA ความเข้มข้น 0.2 มก./ล. มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 6.00 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ซึ่งมีจำนวนยอดมากกว่าต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติมฮอร์โมนที่เกิดยอด 4.10 ยอด/ชิ้นส่วนพืช เนื่องจากฮอร์โมน Kinetin เป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโทไคนิน มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการ

เจริญเติบโตของยอด การขยายขนาดของเซลล์ และกระตุ้นการแบ่งเซลล์ [28] แตกต่างจาก Rahman *et al.* [29] เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของ *K. galanga* บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนกลุ่มออกซิน (NAA, IBA และ IAA) ร่วมกับฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนิน (BA และ Kinetin) พบว่าอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุด 20.50 ยอด/ชิ้นส่วนพืช อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตมีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 9.08 ซม. เมื่อเปรียบเทียบกับต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 2 มก./ล. และ NAA ความเข้มข้น 0.2 มก./ล. มีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 7.40 ราก/ชิ้นส่วนพืช ลักษณะของรากมีสีเขียวเข้ม มีขนาดใหญ่ แตกต่างจาก Chairangini *et al.* [30] เพาะเลี้ยง *K. galanga* และ *K. rotunda* บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.69 ไมโครโมล ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 2.22 ไมโครโมล สามารถชักนำให้เกิดรากเฉลี่ยสูงสุด 9.00 ราก/ชิ้นส่วนพืช อาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ความเข้มข้น 1 มก./ล. และ 2 มก./ล. ร่วมกับ TDZ 2 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล. มีจำนวนรากเฉลี่ย 2.87 และ 2.33 ราก/ชิ้นส่วนพืช ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่ารากที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่นๆ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช ชิ้นส่วนพืช ชนิดของพืช สายพันธุ์พืช และระยะการพัฒนา ซึ่งในการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าเมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนเปราะโคราชในอาหารเหลวที่มีการเติมฮอร์โมน Kinetin และ BA ร่วมกับ TDZ 2 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล. ส่งเสริมการเจริญของยอดได้ แต่อาหารเพาะเลี้ยงที่ใช้ฮอร์โมน Kinetin ร่วมกับ TDZ 2 มก./ล. และ NAA 0.2 มก./ล. เกิดรากค่อนข้างน้อย นอกจากนี้ในการทดลองครั้งนี้ต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวมีการเพิ่มจำนวนยอดและมีความยาวของยอดมากกว่าต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง ทั้งนี้อาจเนื่องจากต้นอ่อนเปราะโคราชที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว ต้นอ่อนได้สัมผัสกับอาหารเท่าเทียมกัน ได้รับอากาศและแสงเท่ากัน ทำให้ต้นอ่อนดูดซับธาตุอาหารไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ดีกว่าส่งผลให้ต้นอ่อนเพิ่มจำนวนต้น และมีความสูงของต้นมากกว่าที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง

จากการนำต้นอ่อนเปราะโคราชย้ายปลูกในวัสดุปลูกทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ ดินร่วน ดินทราย และดินร่วนผสมดินทราย พบว่าต้นอ่อนเปราะโคราชที่ย้ายปลูกในเรือนเพาะชำในวัสดุปลูกทั้ง 3 ประเภท มีอัตราการรอดชีวิต 100% ต้นอ่อนเปราะโคราชที่ย้ายปลูกในดินร่วนผสมดิน

ทรายมีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.70 ยอด/ต้น ซึ่งมากกว่าเมื่อต้นอ่อนเปราะโคราชย้ายลงปลูกในดินร่วน และดินทราย ที่มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.20 และ 1.10 ยอด/ต้น ตามลำดับ ต้นอ่อนเปราะโคราชที่ย้ายปลูกในดินทรายมีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 9.10 ซม. มากกว่าเมื่อเทียบกับการย้ายลงปลูกในวัสดุปลูกที่เป็นดินร่วน และดินร่วนผสมดินทรายที่มีความยาวยอดเฉลี่ยเท่ากับ 8.15 และ 8.60 ซม. ตามลำดับ และต้นอ่อนเปราะโคราชที่ย้ายปลูกในวัสดุที่เป็นดินร่วน พบว่ามีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด 2.54 ใบ ใบมีความกว้างเฉลี่ยมากที่สุด 3.66 ซม. ใบมีสีเขียวเข้ม แผลออก ต้นอ่อนเปราะโคราชที่ย้ายปลูกในดินร่วนผสมดินทรายมีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 6.20 ราก/ต้น ซึ่งมากกว่าเปราะโคราชที่ปลูกในดินร่วน และดินทราย และต้นอ่อนเปราะโคราชที่ย้ายปลูกในดินร่วนผสมดินทรายมีจำนวนรากสะสมอาหารเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 3.60 ราก/ต้น แต่มีความยาวของรากสะสมอาหารน้อยกว่าต้นเปราะโคราชที่ปลูกในดินร่วนซึ่งมีความยาวของรากสะสมอาหารเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 2.70 ซม. แตกต่างจาก Chirangini *et al.* [30] ได้นำต้นอ่อน *K. galanga* ย้ายปลูกในทรายกับปุ๋ยคอก อัตราส่วน 1:1 ปลูกเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าต้นพืชที่ปลูกมีอัตราการรอดชีวิต 80-90% และเกิดยอด 4-5 ยอด/ต้น จากการทดลองในครั้งนี้นั้นต้นอ่อนเปราะโคราชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแล้วนำออกปลูกในเรือนเพาะชำในดินร่วน ดินทราย และดินร่วนผสมดินทราย พบว่ามีการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน ต้นอ่อนเปราะโคราชที่ปลูกในดินร่วนผสมดินทรายให้จำนวนยอด จำนวนราก และจำนวนรากสะสมอาหารมากกว่าต้นอ่อนเปราะโคราชที่ปลูกในดินร่วน และดินทราย

5. สรุปผลการทดลอง

ในการวิจัยครั้งนี้เป็นรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปราะโคราชเป็นครั้งแรก วิธีการทดลองที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางขยายพันธุ์ และอนุรักษ์พันธุกรรมเปราะโคราชที่เป็นพืชถิ่นเดียวของประเทศไทย รวมทั้งยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้เพื่อเป็นแนวทางในการส่งเสริมการนำต้นเปราะโคราชมาพัฒนาเป็นไม้ประดับชนิดใหม่ ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าพืช รวมทั้งเป็นแนวทางในการอนุรักษ์ต้นเปราะโคราชให้มีอยู่อย่างยั่งยืนต่อไป จากรายงานการวิจัยก่อนหน้านี้ยังไม่พบรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปราะโคราช ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาการเพาะเลี้ยงเปราะโคราชเป็นครั้งแรก เพื่อศึกษาผลของฮอร์โมนในกลุ่มออกซิน และไซโทไคนินต่อการเจริญเติบโตของต้นเปราะโคราชเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง และอาหารเหลว รวมทั้งศึกษาวัสดุปลูกที่เหมาะสมเมื่อย้ายต้นอ่อนเปราะ

โคราชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในเรือนเพาะชำ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้ นอกจากจะขยายพันธุ์ต้นเปราะโคราชให้ได้จำนวนมาก ยังเป็นการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชถิ่นเดียว นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้ยังอาจเป็นข้อมูลพื้นฐานในการเพาะเลี้ยงพืชสกุลเปราะชนิดอื่น ๆ นำไปประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช การศึกษาสรรพคุณทางยา ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่า และการสร้างองค์ความรู้ใหม่จากต้นเปราะโคราช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปราะโคราชในสภาพปลอดทดลองในครั้งนี้ สามารถขยายพันธุ์พืชในปริมาณมากในระยะเวลาสั้น โดยอาศัยสูตรอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อพืชแต่ละชนิด สามารถเพิ่มจำนวนต้นพืชเป็นทวีคูณ ซึ่งแตกต่างจากการขยายพันธุ์ตามธรรมชาติที่สามารถเพิ่มจำนวนได้ในช่วงฤดูฝนเท่านั้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยสำหรับนิสิตระดับบัณฑิตศึกษา งบประมาณเงินรายได้ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 ที่ให้ทุนสนับสนุนการทำวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย และขอขอบคุณคุณปิยะ-มาศ ปานทอง ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Techaprasan, J., Klinbunga, S., Ngamriabsakul, C. & Jenjittikul, T. (2010). Genetic variation of *Kaempferia* (Zingiberaceae) in Thailand based on chloroplast DNA (*psba-trnh* and *peta-psbj*) sequences. *Genetics and Molecular Research*, 9(4), 1957-1973.
2. Nopporncharoenkul, N., Somnoo, T., Tanming, W. & Maknoi, C. (2021). *Kaempferia jenjittikuliae* (*Kaempferia* subg. *protanthium*: Zingiberaceae), a new, endangered species endemic to Thailand. *Edinburgh Journal of Botany*, 78(350), 1-13.
3. Picheansoonthon, C. (2011). Two new *Kaempferia* (Zingiberaceae) from Thailand. *Japanese Journal of Botany*, 86, 1-8.
4. Lestari, E. G. & Hutami, S. (2003). Perbanyakan cepat kunci pepet (*Kaempferia angustifolia* Rosc.) melalui kultur *in vitro*. *Journal of Biological Science*, 5(2), 102-105.
5. Haque, S. M. & Ghosh, B. (2018). Micropropagation of *Kaempferia angustifolia* Roscoe-an aromatic, essential oil yielding, underutilized medicinal plant of Zingiberaceae family. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 21(2), 147-153.
6. Vincent, K. A., Mathew, K. M. & Hariharan, M. (1992). Micropropagation of *Kaempferia galanga* L.-a medicinal plant. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 28(2), 229-230.
7. Shirin, F., Kumar, S. & Mishra, Y. (2000). *In vitro* plantlet production system for *Kaempferia galanga*, a rare Indian medicinal herb. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 63(3), 193-197.
8. Rahman, M. M., Amin, M. N., Ahamed, T., Ali, M. R. & Habib, A. (2004). Efficient plant regeneration through somatic embryogenesis from leaf base-derived callus of *Kaempferia galanga* L. *Asian Journal of Plant Sciences*, 3(6), 675-678.
9. Chithra, M., Martin, K. P., Sunandakumari, C. & Madhusoodanan, P. V. (2005). Protocol for rapid propagation, and to overcome delayed rhizome formation in field established *in vitro* derived plantlets of *Kaempferia galanga* L. *Scientia Horticulturae*, 104(1), 113-120.
10. Sahoo, S., Parida, R., Singh, S., Padhy, R. N. & Nayak, S. (2014). Evaluation of yield, quality and antioxidant activity of essential oil of *in vitro* propagated *Kaempferia galanga* Linn. *Journal of Acute Disease*, 3(2), 124-130.
11. Preetha, T. S., Hemanthakumar, A. S. & Krishnan, P. N. (2016). A comprehensive review of *Kaempferia galanga* L. (Zingiberaceae): a high sought medicinal plant in Tropical Asia. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 4(3), 270-276.

12. จิราภรณ์ ผุดผ่อง, สุรพล แสนสุข และปิยะพร แสนสุข. (2558). การขยายพันธุ์เปราะราศี (*Kaempferia larsenii* Sirirugsa) ในหลอดทดลองเพื่อการอนุรักษ์พืชหายากในประเทศไทย. *วารสารวิทยาศาสตร์ มข*, 43(4), 673–687.
13. Saensouk, P., Muangsang, N., Saensouk, S. & Sirinajun, P. (2016). *In vitro* propagation of *Kaempferia marginata* Carey ex Roscoe, a native plant species to Thailand. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 26(5), 1405–1410.
14. Wiyono, L., Edina, B. C., Rahmawanti, R. A., Azizah, N. N., Paramita, R. I., Purwaningsih, E. H. & Fadilah, F. (2020). Isolation, synthesis nanoparticle, and *In-vitro* test of pinostrobin from *Kaempferia pandurata* on MCF-7 and MDAMB-231 breast cancer cell. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 13(6), 2797-2801.
15. Prathanturug, S., Apichartbutra, T., Chuakul, W. & Saralamp, P. (2007). Mass propagation of *Kaempferia parviflora* Wall. ex Baker by *in vitro* regeneration. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 82(2), 179-183.
16. Zuraida, A., Izzati, K., Nazreena, O. & Omar, N. (2015). *In vitro* microrhizome formation in *Kaempferia parviflora*. *Annual Research & Review in Biology*, 5(5), 460–467.
17. Labrooy, C., Abdullah, T. L. & Stanslas, J. (2020). Influence of N6-benzyladenine and sucrose on *in vitro* direct regeneration and microrhizome induction of *Kaempferia parviflora* Wall. ex Baker, an important ethnomedicinal herb of Asia. *Tropical Life Sciences Research*, 31(1), 123.
18. Park, H. Y., Kim, K. S., Ak, G., Zengin, G., Cziaky, Z., Jeko, J. & Sivanesan, I. (2021). Establishment of a rapid micropropagation system for *Kaempferia parviflora* Wall. ex Baker: phytochemical analysis of leaf extracts and evaluation of biological activities. *Plants*, 10(4), 698.
19. Geetha, S. P., Manjula, C., John, C. Z., Minoo, D. & Babu, K. N. (1997). Micropropagation of *Kaempferia* spp. (*K. galanga* L. and *K. rotunda* L.) *Indian Institute of Spices Research*, 6(2), 129–135.
20. Sotthikul, C. & Potihongsa, S. (2017). Some factors affecting *in vitro* propagation of *Kaempferia rotunda*. *Acta Horticulturae*. 1315, 99-104.
21. Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497.
22. Mohanty, S., Parida, R., Singh, S., Joshi, R. K., Subudhi, E. & Nayak, S. (2011). Biochemical and molecular profiling of micropropagated and conventionally grown *Kaempferia galanga*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 106(1), 39–46.
23. Parida, R., Mohanty, S., Kuanar, A. & Nayak, S. (2011). Rapid multiplication and *in vitro* production of leaf biomass in *Kaempferia galanga* through tissue culture. *Electronic Journal of Biotechnology*, 13(4), 4-8.
24. สัมพันธ์ คัมภีรนนท์. (2527). *ฮอร์โมนพืช*. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 136.
25. นพดล จรัสสัมฤทธิ์. (2537). *ฮอร์โมนพืชและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช*. พิมพ์ครั้งที่ 1. สหมิตรออฟเซต. หน้า 51.
26. Bhatt, A., Kean, O.B. & Keng, C.L. (2012). Sucrose, benzylaminopurine and photoperiod effects on *in vitro* culture of *Kaempferia galanga* Linn. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*. 146(4): 900-905.
27. Lu, C. (1993). The use of thidiazuron in tissue culture. *Developmental Biology*. 29: 92-96.
28. คำบุญ กาญจนภูมิ. (2542). *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช*. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. หน้า 29-30.
29. Rahman, M. M., Amin, M. N., Ahamed, T. & Ahmad, S. (2005). *In vitro* rapid propagation of black thorn (*Kaempferia galanga* L.): A rare medicinal and aromatic plant of Bangladesh. *Journal of Biological Sciences*, 5(3), 300–304.

30. Chairangini, P., Sinha, S.K. & Sharma, G.J. (2005). *In vitro* propagation and microrhizome induction in *Kaempferia galanga* L. and *K. rotunda* L. *Indian Journal of Biotechnology*, 4, 404-408.