



Research Article

การเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์ชั้นสายพันธุ์ตรัง 1 ในหลอดทดลอง Optimization of *In Vitro* Propagation of *Curcuma longa* Linn. var. Trang 1

สกุลรัตน์ หายศึก *, พรศิลป์ สีเผือก และ ปิติพัฒน์ บุตรโครต
Sakulrat Hansuek *, Pornsil Seephueak and Pitipat Bootkote

คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อำเภอทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช 80110
Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Thung Song, Nakhon Si Thammarat 80110, Thailand.

ABSTRACT

Article history:

Received: 2024-06-04
Revised: 2024-08-27
Accepted: 2024-09-06

Keywords:

turmeric;
tissue culture;
acclimatization

Trang 1 turmeric, commonly known as golden turmeric, is grown extensively in Nakhon Si Thammarat province due to its high live weight of 2.23 tons per rai. It is resistant to bacterial wilt disease and contains an average of 10.62% curcuminoids and 7.99% essential oils, making it quite popular. As a result, output is insufficient to satisfy market demand, and there is a shortage of good-quality plants for cultivation. Therefore, the objective of this study is to propagate the turmeric cv. Trang 1 *in vitro* to produce large numbers in a short time. Apical shoot induction was studied using bud fragments from turmeric rhizomes. The experimental design was a completely randomized design (CRD). Shoots were surface sterilized and cultured on Murashige and Skoog (MS) with benzyladenine (BA) concentrations of 1, 2, 3, 4, and 5 mg/L for 3 months. It was found that turmeric shoots cultured on MS medium supplemented with 1 mg/L of BA produced the highest number of shoots at 7.60 shoots per explant, shoot height at 6.00 cm, and 4.80 leaves per plant. For root induction, apical shoots were cultured on medium for 3 months. The experimental design was a 7x2 factorial CRD with 2 factors: factor A was naphthylacetic acid (NAA) concentration (0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 and 3 mg/L) and factor B was with or without 0.2% of activated charcoal. It was found that MS medium supplemented with 2 mg/L NAA produced the maximum root number at 11.80 roots per plantlet and a root length of 7.40 cm. Turmeric plantlets with healthy roots were transplanted to a nursery in greenhouses with approximately 50% light penetration for one month. The results showed that the turmeric plants had an 80% survival rate and could rapidly grow into vigorous plants. As a result, turmeric propagation by tissue culture is another way to increase the quantity of turmeric plants commercially to obtain large quantities that are consistent and sufficient to meet demand.

* Corresponding author.

E-mail address: Sakulrat.s@rmutsv.ac.th

Cite this article as:

Hansuek, S., Seephueak, P. and Bootkote, P. 2025. Optimization of *In Vitro* Propagation of *Curcuma longa* Linn. var. Trang 1. **Recent Science and Technology** 17(3): 261510.

บทคัดย่อ

ขมิ้นชันสายพันธุ์จริง 1 หรือที่รู้จักกันคือ ขมิ้นทอง เป็นขมิ้นที่มีการปลูกกันอย่างแพร่หลายในจังหวัดนครราชสีมา เนื่องจากให้น้ำหนักสดสูงถึง 2.23 ตันต่อไร่ ทนทานต่อโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย ให้สารสำคัญเคอร์คูมินอยด์เฉลี่ย 10.62 เปอร์เซ็นต์ น้ำมันหอมระเหยเฉลี่ย 7.99 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย ส่งผลให้ผลผลิตไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด และขาดแคลนต้นพันธุ์คุณภาพดีที่จะนำมาปลูก ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อขยายพันธุ์ขมิ้นชันสายพันธุ์จริง 1 เพื่อให้ได้ปริมาณมากภายในระยะเวลาอันสั้นจากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง การศึกษาการชักนำยอดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนหน่อจากเหง้าขมิ้นชัน วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยนำหน่อมาฟอกฆ่าเชื้อ และวางเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) เติมน้ำมันเบนซิลอะดิวซีน (BA) ความเข้มข้น 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า การวางเลี้ยงหน่อขมิ้นชันบนอาหารสูตร MS เติมน้ำมันเบนซิลอะดิวซีน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำยอด โดยให้จำนวนยอดสูงสุด 7.60 ยอดต่อชิ้นส่วน ความสูงยอด 6.00 เซนติเมตร และจำนวนใบ 4.80 ใบต่อต้น สำหรับการชักนำราก นำชิ้นส่วนยอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร เป็นเวลา 3 เดือน โดยวางแผนการทดลองแบบ 7x2 Factorial in CRD มี 2 ปัจจัย คือ ปัจจัย A ระดับความเข้มข้นของ Naphthylacetic acid (NAA) (0 0.5 1 1.5 2 2.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ ปัจจัย B การเติมหรือไม่เติมผงถ่าน ความเข้มข้น 0.2% พบว่า อาหารสูตร MS เติมน้ำมันเบนซิลอะดิวซีน 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสูตรที่เหมาะสมในการชักนำราก โดยให้จำนวนรากสูงสุด 11.80 รากต่อต้น และความยาวรากสูงสุด 7.40 เซนติเมตร ต้นกล้าขมิ้นชันที่มีรากสมบูรณ์แข็งแรงย้ายไปอนุบาลในโรงเรือนพรางแสง 50 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า ต้นขมิ้นชันมีอัตราการรอดชีวิต 80 เปอร์เซ็นต์ และสามารถเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์และแข็งแรงได้อย่างรวดเร็ว ดังนั้นการขยายพันธุ์ขมิ้นชันด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงเป็นอีกแนวทางในการเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์ขมิ้นชันในเชิงการค้าเพื่อให้ได้ปริมาณมาก มีความสม่ำเสมอ และเพียงพอต่อความต้องการ

คำสำคัญ: ขมิ้นชัน, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, การอนุบาล

1. บทนำ

ขมิ้นชัน เป็นพืชดั้งเดิมในแถบประเทศเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ปลูกกันมากในประเทศมาเลเซีย อินเดีย ศรีลังกา ปากีสถาน และประเทศไทย จัดอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae ชื่อวิทยาศาสตร์ *Curcuma longa* Linn. ชื่อสามัญ turmeric เป็นพืชมีอายุหลายปี มีเหง้าใต้ดินสีเหลืองอมส้ม มีกลิ่นเฉพาะ สายพันธุ์ขมิ้นชันที่นิยมปลูกในภาคใต้ เช่น ขมิ้นชันตาขุน (สุราษฎร์ธานี) ขมิ้นดวง (นครศรีธรรมราช) ขมิ้นชันสายพันธุ์จริง 1 และจริง 2 (Department of Agriculture, 2011) คนไทยนิยมใช้ขมิ้นชันในการปรุงอาหาร รวมถึงใช้แต่งอาหารให้มีสีเหลือง (Sukontharat, 2015) นอกจากนี้ยังใช้เป็นสมุนไพรแก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ แก้อักเสบ ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Helicobacter pylori* ในกระเพาะอาหาร (Praditsin and Punnipa, 2011; Prucksunand, 2001) รักษาแผลเปื่อยในกระเพาะและลำไส้ (Daow Rattanachai, 2002) ลดการอักเสบชนิดเฉียบพลัน และยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา (Sincharoenpokai et al., 2009; Anis et al., 2003; Singh et al., 2002; Cikrikci et al., 2008; Subramoniam et al., 2013) มีฤทธิ์ต้านมะเร็งผิวหนัง แก้อาการคัน รักษาแผลพุพอง แก้อาการแพ้เนื่องจากแมลงกัดต่อย ใช้ในการสมานแผล การดูแลผิวพรรณ (Soonthornvipat, 2022) ด้านการเกษตร ใช้กำจัดหมีดกระโดด กำจัดเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคพืช (Attanon, 2015) และออกฤทธิ์โดยอ้อมในการยับยั้งเชื้อไวรัสไข้หวัดนก (Kongkathip et al., 2006) ภาคใต้นิยมนำขมิ้นชันมาใช้ในการประกอบอาหารจนกลายเป็นวิถีพื้นบ้าน โดยเฉพาะจังหวัดนครศรีธรรมราชซึ่งขึ้นชื่อในเรื่องของเครื่องแกง โดยขมิ้นชันเป็นวัตถุดิบหนึ่งที่สำคัญในการผลิต อีกทั้งในปัจจุบันมีการใช้สมุนไพร

ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เพื่อป้องกันเชื้อไวรัสโควิด 19 ทำให้ราคาขมิ้นพุ่งสูงขึ้น ส่งผลให้ขมิ้นชันที่ผลิตได้ไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด

กระบวนการผลิตขมิ้นชันในพื้นที่ภาคใต้นั้นมักประสบปัญหาที่สำคัญคือ โรคเหี่ยวหรือเหง้าเน่าจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุก่อโรคพืชในดิน และส่งผลให้เหง้าพันธุ์ดีเสียหาย สภาพอากาศร้อนชื้น ฝนตกชุกและต่อเนื่องเป็นสภาพที่เอื้อต่อการระบาดของโรคและสร้างความเสียหายทั่วทั้งแปลงปลูก หากระบาดรุนแรงจะไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ โดยทั่วไปเกษตรกรมักขยายพันธุ์ขมิ้นชันจากชิ้นส่วนเหง้าและแงซึ่งใช้ระยะเวลาในการปลูก 10-12 เดือน ซึ่งจะได้เพียงปีละหนึ่งครั้งเท่านั้น ให้ผลผลิตอยู่ที่ 1,950-2,000 กิโลกรัมต่อไร่ ส่งผลให้ปริมาณขมิ้นชันพันธุ์ดีไม่เพียงพอต่อการผลิตในระดับอุตสาหกรรม อีกทั้งขมิ้นชันมีโรคที่สำคัญคือ โรคหัวเน่า โรคเหง้า และรากเน่า ซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย โรคใบจุดเกิดจากเชื้อรา โรคที่พบนี้มักจะติดมากับเหง้าพันธุ์ เมื่อนำไปปลูกจะทำให้เกิดโรคระบาดก่อให้เกิดความสูญเสียของผลผลิต นอกจากนี้ยังทำให้คุณภาพของสรรพคุณทางยาลดลงอีกด้วย

ปัจจุบันมีการนำเทคนิคการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้อย่างกว้างขวาง เพราะสามารถผลิตต้นพันธุ์ที่ปลอดโรคได้จำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น (Nuanbunruang et al., 2019) มีรายงานการขยายพันธุ์พืชในตระกูลเดียวกับขมิ้นมากมาย ดังรายงานของ Shukla et al. (2007) ทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดของต้นกระเจียว (*Curcuma angustifolia* Roxb.) บนอาหารสูตร MS เติมน้ำมันเบนซิลอะดิวซีน 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ สามารถส่งเสริมการเกิดยอดสูงสุด 80 เปอร์เซ็นต์

และมีจำนวนยอดสูงสุดเพียง 1.87 ยอดต่อชิ้นส่วน Shrama and Raina (2013) เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดของขมิ้นชันบนอาหารสูตร MS เต็ม BA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าให้เกิดยอดสูงสุด 88.33 เปอร์เซ็นต์ และจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.3 ยอดต่อชิ้นส่วน นอกจากนี้มีงานวิจัยการขยายพันธุ์ขมิ้นชันในหลอดทดลองมากมาย แต่จำนวนต้นที่ขยายพันธุ์ได้ยังมีปริมาณน้อย (Shaqufta *et al.*, 2009; Goyal *et al.*, 2010; Jala, 2012) ดังนั้น ในการศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งเน้นที่จะเพิ่มปริมาณยอดของขมิ้นชันให้ได้ปริมาณมาก รวมถึงการชักนำรากและอนุบาลต้นกล้า เพื่อเป็นแนวทางในการขยายพันธุ์ขมิ้นชันให้ได้ต้นที่ปลอดโรคและเพียงพอต่อความต้องการของตลาด

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นของ BA ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดของขมิ้นชัน

นำชิ้นส่วนแ่งของขมิ้นชันสายพันธุ์ตรัง 1 อายุ 9 เดือน จากสวนเกษตรกร หมู่ที่ 2 บ้านร่อนนา ตำบลร่อนพิบูลย์ อำเภอร่อนพิบูลย์ จังหวัดนครศรีธรรมราช ที่เริ่มออกหน่ออ่อน (ยอดอ่อน) มาตัดแต่งและล้างด้วยน้ำยาล้างจาน จากนั้นจุ่มแช่แอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 30 วินาที และฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 20% เป็นเวลา 25 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ภายในตู้ยาล้าง แล้วตัดแต่งชิ้นส่วนยอดให้มีขนาด 1 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เต็ม BA ความเข้มข้น 0 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรับค่า pH เป็น 5.7 จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 27 ± 1 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 25 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 3 เดือน บันทึกจำนวนยอด ความสูงต้น และจำนวนใบ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) แต่ละสิ่งทดลองทำ 10 ซ้ำ ๆ ละ 5 ขวด (1 ขวด เพาะเลี้ยง 1 ชิ้นส่วน)

2.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาความเข้มข้นของ NAA และผงถ่านต่อการชักนำรากของขมิ้นชัน

นำชิ้นส่วนยอดขมิ้นชันสายพันธุ์ตรัง 1 มาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เต็ม NAA ความเข้มข้น 0 0.5 1 1.5 2 2.5 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เต็มและไม่เติมผงถ่าน 0.2 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 27 ± 1 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 25 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 3 เดือน บันทึกจำนวนรากต่อต้น และความยาวราก โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial ใน CRD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT แต่ละสิ่งทดลองทำ 10 ซ้ำ ๆ ละ 5 ขวด (1 ขวด เพาะเลี้ยง 1 ชิ้นส่วน)

2.3 การทดลองที่ 3 การอนุบาลต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

นำต้นขมิ้นชันสายพันธุ์ตรัง 1 ที่เกิดราก ต้นมีความสมบูรณ์แข็งแรง ความสูง 10 เซนติเมตร ที่ได้จากการชักนำรากเป็นเวลา 3 เดือน มาล้างวันออกตัดใบออกบางส่วนแล้วจุ่มแช่รากในยาถอนรากเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นฝังลงให้แห้ง และนำไปปลูกในกระถางที่มีส่วนผสมของดิน ขี้เถ้าแกลบ และขุยมะพร้าวในอัตราส่วน 1:1:1 นำไปอนุบาลในโรงเรือนเพาะชำด้วยการพรางแสง 50 เปอร์เซ็นต์ รดน้ำทุกวัน ๆ ละ 1 ครั้ง ในช่วงเช้า บันทึกอัตราการรอดชีวิต หลังจากอนุบาลเป็นเวลา 1 เดือน

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

3.1 ผลของความเข้มข้นของ BA ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดของขมิ้นชัน

จากการวางเลี้ยงชิ้นส่วนยอดขมิ้นชันสายพันธุ์ตรัง 1 เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ยอดเริ่มมีการตอบสนองต่ออาหาร โดยมีการพัฒนาของยอดที่วางเลี้ยงจากสีขาวเปลี่ยนเป็นสีเขียว และเจริญไปเป็นต้นใหม่ โดยการวางเลี้ยงชิ้นส่วนยอดบนอาหารสูตร MS เต็ม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ขมิ้นชันมีการสร้างยอดสูงสุด 7.60 ยอดต่อชิ้นส่วน (Table 1) แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับอาหารสูตรอื่น ๆ ซึ่งให้การสร้างยอดอยู่ในช่วง 4.15-5.20 ยอดต่อชิ้นส่วน ในขณะที่ความสูงต้น และจำนวนใบ ในทุกสูตรอาหารไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (Table 1) ทั้งนี้แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของ BA ไม่มีผลต่อความสูงต้นและจำนวนใบของขมิ้นชันสายพันธุ์ตรัง 1 ลักษณะการเกิดยอดใหม่ของขมิ้นชัน หลังวางเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า อาหารทุกสูตรสามารถให้การสร้างยอดรวมได้ โดยต้นใหม่ที่โตมีลำต้น และใบสีเขียว มีลักษณะปกติ (Figure 1)

จากการทดลองจะเห็นได้ว่าอาหารสูตร MS เต็ม BA ความเข้มข้นเพียง 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถส่งเสริมให้ขมิ้นชันมีจำนวนยอดสูงถึง 7.60 ยอดต่อชิ้นส่วน ความสูงต้น 6.00 เซนติเมตร และจำนวนใบ 4.80 ใบต่อต้น สอดคล้องกับการเพาะเลี้ยงขมิ้นชันสายพันธุ์ตรัง 1 และ 2 โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต 4 ชนิดคือ BA, Kinetin, Isopentenyl (2-iP) และ Thidiazuron (TDZ) แล้วพบว่า การเติมไซโตไคนินทั้ง 4 ชนิดให้จำนวนต้นที่เกิดใหม่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยให้จำนวนต้นเฉลี่ย 4-5 ต้น (Vanitchananan *et al.*, 2018) แต่เมื่อพิจารณาราคาของสารเคมีเพื่อลดต้นทุน สำหรับการผลิตทางพาณิชย์ จึงแนะนำการใช้ BA ที่มีราคาถูก (Plant Tissue Culture Supplies by SAC SCI-ENG, 2024) ในขณะที่มีรายงานการเพาะเลี้ยงขมิ้นชันสายพันธุ์ Salem โดยเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารสูตร MS เต็ม 6-Benzylaminopurine (BAP) ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับบอดีนีนซัลเฟต ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรด

แอสคอร์บิก ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการชักนำยอด เริ่มต้น แล้วจึงย้ายไปยังอาหารชักนำยอดรวมสูตร MS เติม BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีการใช้สารเคมีหลายชนิด เสียค่าใช้จ่ายมากกว่า แต่ให้จำนวนยอดไม่ต่างกันมากคือ 9.85 ยอดต่อชิ้นส่วน (Sinchana *et al.*, 2020) นอกจากนี้ยังมีรายงานการเพาะเลี้ยง ชิ้นส่วนยอดของขมิ้นชันบนอาหารสูตร Woody plant medium (WPM) เติม BAP ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอด 6.7 ยอดต่อชิ้นส่วน (Nasirujjaman *et al.*, 2005) ซึ่งมีการใช้สารมากกว่า แต่ให้จำนวน ยอดน้อยกว่า จากการทดลองสามารถลดขั้นตอนการชักนำยอด เริ่มต้นและยอดรวม เป็นการชักนำการเพิ่มปริมาณยอด นอกจากนี้

ยังมีรายงานการเพาะเลี้ยงปลายยอดกระเจียวบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ให้จำนวนยอดเฉลี่ย เพียง 1.87 ยอดต่อชิ้นส่วน (Shukla *et al.*, 2007) ซึ่งมีการใช้ BA ในความเข้มข้นที่สูงกว่า แต่ได้จำนวนยอดที่น้อยกว่า ในการชักนำ ยอดบนอาหารเป็นเวลา 3 เดือน อาจเป็นไปได้ว่าเป็นพืชคนละชนิด กันจึงตอบสนองต่อสารควบคุมการเจริญเติบโตในปริมาณที่ แตกต่างกัน โดย BA จะช่วยกระตุ้นการแตกยอดใหม่ เพิ่มจำนวน ของยอดใหม่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของยอด ช่วยกระตุ้นการ ขยายตัวและการเติบโตของยอด ทำให้ยอดมีขนาดใหญ่ขึ้นและมีการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว ทั้งนี้การใช้ BA อย่างเหมาะสมจะช่วย เพิ่มประสิทธิภาพในการเจริญเติบโตของยอดและการผลิตพืช ได้มากขึ้น (Angus and Michael, 2003)

Table 1 Effect of BA concentrations on shoot induction of *Curcuma longa* Linn. var. Trang 1 after culturing on MS medium for 3 months

BA concentrations (mg/L)	Number of shoots (shoots/explant)	Height (cm)	Number of leaves (leaves/explant)
0 mg/L BA	4.15 ^{b1/}	4.90	4.10
1 mg/L BA	7.60 ^a	6.00	4.80
2 mg/L BA	5.20 ^b	5.50	4.10
3 mg/L BA	5.20 ^b	5.30	4.70
4 mg/L BA	5.10 ^b	5.30	4.50
5 mg/L BA	5.10 ^b	4.70	4.50
F-test	**	ns	ns
C.V. (%)	11.04	19.22	13.81

ns = Not significant differences at $p > 0.05$ level.

** = Significant differences at $p \leq 0.01$ level.

^{1/} = Values followed by different letters are significantly different according to DMRT.

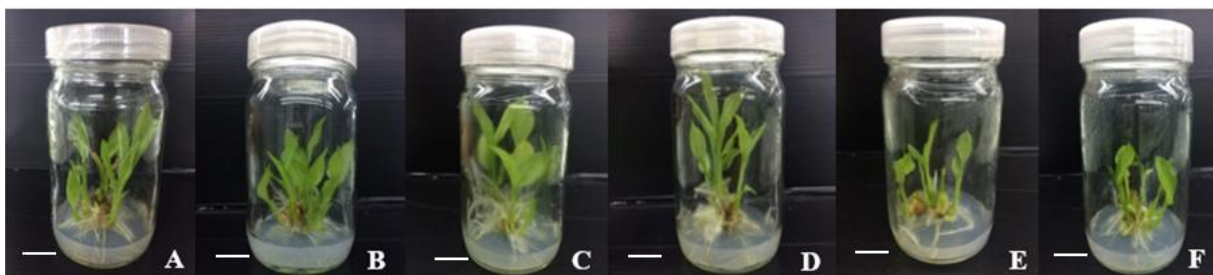


Figure 1 Characteristics of shoot induction of *Curcuma longa* L. var. Trang 1 after culturing on MS medium supplemented with different concentrations of BA for 3 months (A) 0 mg/L (B) 1 mg/L (C) 2 mg/L (D) 3 mg/L (E) 4 mg/L (F) 5 mg/L (bar = 1 cm.)

3.2 ผลของความเข้มข้นของ NAA และผงถ่านต่อการชักนำรากของขมิ้นชัน

เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของขมิ้นชันสายพันธุ์จริง 1 บนอาหารสูตร MS เต็ม NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การสร้างรากเฉลี่ยสูงสุด 11.55 รากต่อต้น (Table 2) แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้นอื่น ๆ (Table 2) การเติมและไม่เติมผงถ่านให้จำนวนรากของขมิ้นชัน แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) อาหารที่ไม่เติมผงถ่านให้จำนวนรากมากกว่าอาหารที่เติมผงถ่าน โดยให้จำนวนรากเฉลี่ย 9.76 และ 8.84 รากต่อต้น ตามลำดับ แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) เมื่อพิจารณาปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างสูตรอาหารและการเติมผงถ่าน พบว่า ทั้งสองปัจจัยมีผลต่อจำนวนรากของขมิ้นชันสายพันธุ์จริง 1 อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p \leq 0.01$) โดยการชักนำรากบนอาหารสูตร MS เต็ม NAA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งที่ไม่เติมและไม่เติมผงถ่านให้จำนวนรากสูงสุด 11.80 และ 11.30 รากต่อต้นตามลำดับ ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่แตกต่างกันทางสถิติ

อย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับอาหารสูตรอื่น ๆ ดังนั้น เพื่อเป็นการลดต้นทุนค่าอาหารเพาะเลี้ยง ในการชักนำรากของขมิ้นชันสายพันธุ์จริง 1 จึงไม่จำเป็นต้องเติมผงถ่าน

ความยาวรากของขมิ้นชันจากการชักนำบนอาหารสูตร MS เต็ม NAA เข้มข้น 2.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 7.60 และ 7.10 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 3) ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับการเติม BA ที่ความเข้มข้นอื่น ๆ การชักนำรากบนอาหารที่ไม่เติมผงถ่านให้ความยาวรากมากกว่าอาหารที่เติมผงถ่านซึ่งให้ความยาวรากเฉลี่ย 6.45 และ 5.08 เซนติเมตร ตามลำดับ แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) เมื่อพิจารณาปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างสูตรอาหารและวิธีการชักนำราก พบว่าทั้งสองปัจจัยมีผลต่อความยาวรากของขมิ้นชันสายพันธุ์จริง 1 อย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p \leq 0.01$) โดยการชักนำรากบนอาหารสูตร MS เต็ม NAA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่เติมผงถ่านให้ความยาวรากสูงสุด 8.60 เซนติเมตร แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับอาหารสูตรอื่น ๆ

Table 2 Effects of NAA concentrations with or without activated charcoal (AC) on the number of roots after culturing on MS medium for 3 months

NAA concentrations (mg/L)	Number of roots (roots/plantlet)		Average ^A NAA concentration
	With AC	Without AC	
0 mg/L NAA	7.40 ^{f1/}	8.50 ^e	7.95E
0.5 mg/L NAA	8.60 ^e	8.50 ^e	8.55D
1.0 mg/L NAA	8.70 ^{de}	9.40 ^{cd}	9.05CD
1.5 mg/L NAA	10.50 ^b	10.30 ^{bc}	10.40B
2.0 mg/L NAA	11.30 ^{ab}	11.80 ^a	11.55A
2.5 mg/L NAA	9.20 ^d	10.00 ^c	9.60C
3.0 mg/L NAA	6.20 ^g	9.80 ^{cd}	8.00D
Average ^B with or without AC	8.84B	9.76A	
A	**		
B	**		
A*B	**		
C.V.(%)	14.34		

** = Significant differences at $P \leq 0.01$ level.

^{1/} = Values followed by different letters are significantly different according to DMRT.

Table 3 Effects of NAA concentrations and with or without AC on root length after culturing on MS medium for 3 months

NAA concentrations (mg/L)	Root length (cm)		Average ^A NAA concentration
	With AC	Without AC	
0 mg/L NAA	3.50 ^{e1/}	4.40 ^d	3.95D
0.5 mg/L NAA	3.20 ^e	4.20 ^{de}	3.70D
1.0 mg/L NAA	4.50 ^{de}	7.00 ^{bc}	5.75C
1.5 mg/L NAA	4.60 ^d	6.40 ^{cd}	5.50C
2.0 mg/L NAA	6.80 ^c	7.40 ^b	7.10A
2.5 mg/L NAA	6.60 ^{cd}	8.60 ^a	7.60A
3.0 mg/L NAA	6.40 ^{cd}	7.20 ^{bc}	6.80B
Average ^B with or without AC	5.08B	6.45A	
A	**		
B	**		
A*B	**		
C.V.(%)	8.43		

** = Significant differences at $P \leq 0.01$ level.

^{1/} = Values followed by different letters are significantly different according to DMRT.

จากการทดลองพบว่า สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการสร้างรากของขมิ้นชันสายพันธุ์ตรัง 1 คือสูตร MS เติม NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถสร้างรากได้ 11.80 รากต่อต้น และความยาวราก 7.40 เซนติเมตร ในขณะที่ Sukontharat (2015) วางเลี้ยงชิ้นส่วนยอดของขมิ้นชันบนอาหารสูตร MS เติม NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอด 3.59 ยอดต่อชิ้นส่วน และจำนวนรากถึง 19.75 รากต่อชิ้นส่วน และ Nasri *et al.* (2013) รายงานการชักนำรากจากชิ้นส่วนยอดที่พัฒนามาจากการวางเลี้ยงฐานใบของ *Alstroemeria ligto* บนอาหารสูตร MS เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การเกิดรากเพียง 2.75 รากต่อชิ้นส่วน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสถานะของเนื้อเยื่อที่ถูกกระตุ้นต่างกัน โดยการเจริญเติบโตของรากจะมีความแตกต่างกันระหว่างเนื้อเยื่อที่ยังไม่เจริญเติบโต (เพิ่งมีการพัฒนาเป็นต้นกล้า) และเนื้อเยื่อที่อยู่ในระยะการเจริญเติบโตแล้ว (เป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์) ซึ่งจากการทดลองมีการใช้เนื้อเยื่อที่เพิ่งมีการพัฒนาเป็นยอด อาจต้องใช้ปริมาณ NAA ที่สูงกว่าเพื่อกระตุ้นให้เกิดการสร้างราก ทั้งนี้ ออกซินมีผลต่อการเจริญเติบโตและการสร้างรากของพืช โดย NAA ช่วยกระตุ้นการแบ่งเซลล์ในเนื้อเยื่อที่ต้องการสร้างราก ซึ่งจะทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของเซลล์ในพื้นที่นั้น ๆ ช่วยให้เซลล์ขยายตัวได้ดีขึ้น ซึ่งส่งผลให้รากเจริญเติบโตได้เร็วและแข็งแรง และส่งเสริมการก่อดวงของท่อรากในเนื้อเยื่อพืช และช่วยกระตุ้นให้เซลล์ที่อยู่ในเนื้อเยื่อที่กำลังพัฒนานั้นเริ่มต้นการสร้างรากขึ้น (Taiz *et al.*, 2015) นอกจากนี้พืชแต่ละชนิดจะตอบสนองต่อชนิดของออกซินแตกต่างกัน

ไป Sinchana *et al.* (2020) รายงานการชักนำรากของขมิ้นชันโดยใช้สาร IBA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการเติมผงถ่าน จึงสามารถให้การสร้างรากได้ โดยให้การสร้างรากเพียง 2.70 รากต่อต้น อย่างไรก็ตาม พืชต่างชนิดกันต้องการชนิดและระดับความเข้มข้นของออกซินต่างกัน เนื่องจากความแตกต่างในโครงสร้างของฮอร์โมนที่รับรู้และการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการตอบสนองต่อออกซินต่างกัน ทั้งนี้หากไม่มีการเติมออกซินก็จะมี การสร้างราก แต่พืชบางชนิดไม่จำเป็นต้องเติมออกซินก็สามารถสร้างรากเองได้

3.3 การอนุบาลต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

จากการอนุบาลต้นกล้าขมิ้นชันสายพันธุ์ตรัง 1 เป็นเวลา 2 เดือน พบว่า ต้นขมิ้นชันมีอัตราการรอดชีวิต 80 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะต้นสมบูรณ์มีการเจริญเติบโตทั้งด้านความสูง จำนวนใบ และมีพื้นที่ใบเพิ่มมากขึ้น (Figure 2) จากการศึกษาครั้งนี้ใช้วัสดุปลูกได้แก่ ดิน ขี้เถ้าแกลบ และขุยมะพร้าว ในอัตราส่วน 1:1:1 ถือเป็นวัสดุปลูกที่สามารถช่วยให้พืชมีการเจริญเติบโตได้ดี ในขณะที่ Ghosh and Chatterjee (2013) ย้ายปลูกต้นขมิ้นชันในกระถางที่บรรจุดินและเวอมิกูลในอัตราส่วน 2 ต่อ 1 เป็นเวลา 30 วัน จากนั้นย้ายปลูกลงในกระถางพลาสติก เป็นเวลา 2 สัปดาห์ วางเลี้ยงในโรงเรือนกระจก มีอัตราการรอดชีวิต 86 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใช้วัสดุปลูกที่ค่อนข้างแพง แต่ให้อัตราการรอดชีวิตที่ไม่แตกต่างกันมาก และ Shaqufta *et al.* (2009) รายงานการย้ายปลูกต้นกล้า

ขมิ้นชันที่สมบูรณ์ลงปลูกในกระถางบรรจุดิน ทรา และขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:1 วางอนุบาลในเรือนกระจกนาน 30-50 วัน จากนั้นย้ายปลูกลงในแปลงปลูกเป็นเวลา 2 สัปดาห์ มีอัตราการรอดชีวิต 70-80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีการใช้วัสดุปลูกต่างกัน และมีขั้นตอนที่มากกว่า แต่ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตไม่ต่างกัน โดยในช่วงแรกของการอนุบาล เป็นช่วงที่มีความสำคัญกับพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพราะพืชมีความอ่อนแอ จำเป็นต้องอาศัยการปรับตัวกับสภาพแวดล้อมใหม่ เมื่อตั้งตัวได้พืชจะมีการเจริญเติบโตได้เหมือนพืชทั่วไปที่อยู่นอกหลอดทดลอง รวมถึงการเลือกวัสดุปลูกถือว่ามีความสำคัญสำหรับการรอดชีวิตและการเจริญเติบโตของพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองเป็นอย่างมาก



Figure 2 Acclimatization of *Curcuma longa* L. var. Trang 1 in a greenhouse (A) initiation for 1 week (B) 2 months and (C) 3 months (bar = 2.5 cm.)

4. สรุป

อาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดของขมิ้นชัน โดยสามารถชักนำการสร้างยอดสูงสุด 7.60 ยอดต่อชิ้นส่วน ความสูงต้น 6.00 เซนติเมตร และจำนวนใบ 4.80 ใบต่อต้น

อาหารสูตร MS เติม NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และไม่เติมผงถ่าน เป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำรากของขมิ้นชันสายพันธุ์ตรัง 1 ในหลอดทดลอง โดยส่งเสริมให้มีการสร้างรากสูงสุด 11.80 รากต่อต้น และความยาวราก 7.40 เซนติเมตร

ต้นขมิ้นชันที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีระบบรากสมบูรณ์แข็งแรง สามารถนำมาอนุบาลในกระถางที่มีส่วนผสมของดิน ขี้เถ้าแกลบ และขุยมะพร้าวในอัตราส่วน 1:1:1 อนุบาลเป็นเวลา 1 เดือน ต้นขมิ้นชันสายพันธุ์ตรัง 1 มีอัตราการรอดชีวิตถึง 80 เปอร์เซ็นต์

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ประจำปีงบประมาณ 2566 ประเภททุนวิจัยพื้นฐาน คณะผู้วิจัยขอขอบคุณหน่วยวิจัยไม้ผลและไม้ยืนต้น สาขาพืชศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช ที่สนับสนุนสถานที่ในการทำวิจัยในครั้งนี้

6. เอกสารอ้างอิง

- Angus, W.T. and Michael, T.L. 2003. **The Cytokine Handbook**. ScienceDirect, USA.
- Anis, M., Faisal, M. and Singh, S.K. 2003. Micropropagation of mulberry (*Morus alba* L.) through *in vitro* culture of shoot tip and nodal explants. **Plant Tissue Culture** 13(1): 47-51.
- Attanon, P. 2015. **Research Report on Research and Development on Utilization of Medicinal Plants as Natural**. Department of Agriculture, Bangkok. (in Thai)
- Cikrikci, S., Mozioglu, E. and Yilmaz, H. 2008. Biological activity of curcuminoids isolated from *Curcuma longa* L. **Reccord of Natural Products** 2(1): 19-24.
- Daow Rattanachai, S. 2002. Turmeric and the treatment of stomach ulcers. **Medicinal plant newsletter** 19(4): 12-16.
- Department of Agriculture. 2011. **Turmeric: Steps to follow in producing turmeric**. Available Source: <http://www.kstation.tv>, August 16, 2022. (in Thai)
- Ghosh, A. and Chatterjee, P. 2013. A protocol for rapid propagation of genetically true to type Indian Turmeric (*Curcuma longa* L.) through *in vitro* culture technique. **Advances in Applied Science Research** 4(3): 39-45.
- Goyal, A.K., Ganguly, K., Mishra, T. and Sen, A. 2010. *In vitro* multiplication of *Curcuma longa* Linn. an important medicinal zingiber. **NBU Journal of Plant Sciences** 4(1): 21-24.
- Jala, A. 2012. Effects of NAA BA and sucrose on shoot induction and rapid micropropagation by trimming shoot of *Curcuma longa* L. **Thammasat International Journal of Science and Technology** 17(4): 54-60.
- Kongkathip, N., Chanin T., Sirirak, C., Taweesak, S. and Panthit, M. 2006. **Development of turmeric and Yanphamo herbal extracts to combat bird flu**. Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Nasirujaman. K., Salah Uddin, M., Zaman, S. and Reza, M.A. 2005. Micropropagation of Turmeric (*Curcuma longa* Linn.) through *in vitro* Rhizome Bud Culture. **Journal of Biological Sciences** 5(4): 490-492.
- Nasri, F., Mortazavi, S.N., Ghaderi, N. and Javadi, T. 2013. Propagation *in vitro* of *Alstroemeria ligtu* hybrid through direct organogenesis from leaf base. **Journal of Horticultural Research** 21(2): 23-30.

- Nuanbunruang, P. and Apichart, C. and Pitak, P. 2019. **Plant propagation using plant tissue culture techniques.** KBS Knowledge Book Store, Bangkok. (in Thai)
- Praditsin, S. and Punnipa, S. 2011. Effect of curcuminoids from *Curcuma longa* Linn. on cellular morphology and viability of *Helicobacter pylori*. **Burapha Science Journal** 16(2): 75-82. (in Thai)
- Plant Tissue Culture Supplies by SAC SCI-ENG. 2024. **Cytokinin.** Available Source: www.ptcs-shop.com, August 24, 2024. (in Thai)
- Prucksunand, C. 2001. **Turmeric Research: Pioneer at Faculty of Medicine Siriraj Hospital.** TW System, Bangkok. (in Thai)
- Shaqufta, N., Saiga, I., Sumera, J. and Aamir, A. 2009. *In vitro* clonal multiplication and acclimatization of different varieties of Turmeric (*Curcuma longa* L.). **Pakistan Journal of Botany** 41(6): 2807-2816.
- Shrama, S.K. and Raina, V. 2013. *In vitro* protocol standardization for turmeric in Jammu division. **Journal of Biotechnology Research Center** 8(3): 55-57.
- Shukla, S.K., Susmita, S., Vijaya, K. and Mishra, S.K. 2007. *In vitro* propagation of tikhur (*Curcuma angustifolia* Roxb.) a starch yielding plant. **Indian Journal of Biotechnology** 6(2): 274-276.
- Sinchana, N.S., Kattimani, K.N., Prabhuling, G., Sudesh, K. and Jagadeesha, N. 2020. Standardization of tissue culture protocol for turmeric (*Curcuma longa* L.) cv. Salem. **International Journal of Chemical Studies** 8(1): 2721-2726.
- Sincharoenpokai, P., Ong-ard, L., Patcharee, S., Ngampong, K., Suriyan, S. and Boonsong, K. 2009. Inhibitory effects of Turmeric (*Curcuma longa* Linn.) extracts on some human and animal pathogenic bacteria, pp. 244-253. *In 47th Kasetsart University Annual Conference: Science.* Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Singh, R., Chandra, R., Bore, M. and Luthra, P.M. 2002. Antibacterial activity of *Curcuma longa* rhizome extract on pathogenic bacteria. **Current Science** 83(6): 737-740.
- Soonthornvipat, T. 2022. Effect of aloe vera and turmeric essential oil coating on storage shelf-life and postharvest quality of strawberry cv. No. 80. **Udonthani Rajabhat University Journal of Sciences and Technology** 10(1): 73-88. (in Thai)
- Subramoniam, A., Madhavachandran, V. and Gangaprasad, A. 2013. Medicinal plants is the treatment of arthritis. **Annals of Phytomedicine an International Journal** 2(1): 3-36.
- Sukontharat, P. 2015. *In vitro* propagation of *Curcuma longa* Linn. from *ex vitro* sprouted rhizome. Master of Science (Plant Science), Prince of Songkla University. (in Thai)
- Taiz, L., Zeiger, E., Moller, I.M. and Murphy, A. 2015. **Plant Physiology and Development** (6th ed). Sinauer Associates, Inc Publishers, Massachusetts.
- Vanitchananan, P., Supalak, A. and Ampai, S. 2018. Development of system for micropropagation of turmeric (*Curcuma longa* Linn.) using tissue culture technique, pp. 12-30. *In Plant tissue culture for propagation and crop improvement.* Department of Agriculture, Biotechnology Research and Development Office, Bangkok. (in Thai)