

อิทธิพลของ BA และ NAA ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนยอดต้นพรหมมิ โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Influence of BA and NAA on Inducing New Shoots and Roots in *Bacopa monaneiri* (L.) Pennel In Vitro

ยงศักดิ์ ขจรผดุงกิตติ และอัญชลี จาละ*

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Youngsak Kachonpadungkitti and Anchalee Jala*

Department of Biotechnology, Faculty of Science and Technology,

Thammasat University, Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

บทคัดย่อ

การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการชักนำยอดพรหมมิโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนข้อบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA (0, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้มีจำนวนยอดพรหมมิได้สูงสุด และอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA (0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากสูงสุด คือ 7.9 ราก เมื่อเพาะเลี้ยงยอดอ่อนพรหมมิบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดสูงสุด ส่วนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA 0.05 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยความสูงของยอด และอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนรากสูงสุดอยู่ที่ 18.3-24.3 ราก

คำสำคัญ : BA; NAA; การเพิ่มจำนวนยอด; พรหมมิ

Abstract

Influence of growth regulator on inducing new shoots of *Bacopa monneiri* cultured on MS medium supplemented with various concentration of (0, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 and 2.0 mg/l) BA. It was found that MS medium supplemented with 0.1 mg/l BA gave the highest number of new shoots. When cultured new shoots on MS medium supplemented with various concentration of NAA (0, 0.1, 0.2, 0.5 and 1.0 mg/l). It was found that MS medium supplemented with 0.1 mg/l NAA gave the

highest average number of roots about 7.79 roots. When cultured shoots of *Bacopa monneiri* on MS medium supplemented with combination of various concentration of BA (0, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 and 2.0 mg/l) and NAA (0, 0.05 and 0.1 mg/l). It was found that MS medium supplemented with combination of 0.5 and 1.0 mg/l BA and 0.1 mg/l NAA gave the highest average number of shoot, MS medium supplemented with only 0.05 and 0.1 mg/l NAA gave the highest average plant height about 4.31-4.89 cm. and MS medium supplemented with combination of 0.05mg/l NAA and 0.1 and 0.2 mg/l BA gave the highest average number of root about 18.3-24.3 roots.

Keywords: BA; NAA; micropropagation; *Bacopa monneiri*

1. คำนำ

พรมมีมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Bacopa monneiri* (L.) Pennel อยู่ในวงศ์ Scrophulariaceae เป็นพืชกึ่งน้ำกึ่งบก ชอบขึ้นในที่ชื้นแฉะ พรมมีเป็นผักพื้นบ้านทางภาคอีสานมีชื่อท้องถิ่นว่าผักมี มีการนำมารับประทานเป็นผักแกล้มกับน้ำพริก และเป็นพันธุ์ไม้น้ำที่นิยมใช้ตกแต่งตู้ปลา ในคัมภีร์อายุรเวทของอินเดียกล่าวไว้ว่าพรมมีมีสรรพคุณในการบำรุงสมอง และช่วยเสริมความจำรวมทั้งการเรียนรู้ ปกป้องเซลล์ประสาทไม่ให้ถูกทำลายโดยง่าย

พรมมีเป็นพืชที่มีความสำคัญในเชิงพาณิชย์ จากการศึกษาพบว่าพรมมีมีสารสกัดชื่อซาโปนิน (saponins) ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายสเตียรอยด์ มีฤทธิ์ที่ทดสอบแล้วว่าช่วยเพิ่มการเรียนรู้ ความจำ และปกป้องสมองในสัตว์ทดลองทั้งในภาวะปกติและในภาวะที่มีความจำบกพร่อง ซาโปนินเป็นสารที่พบได้ในโสมและแปะก๊วย แต่พรมมีมีราคาถูกกว่า พรมมีมีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวางในเขตอบอุ่นของเอเชีย ออสเตรเลีย และอเมริกา เนื่องจากความต้องการในเชิงพาณิชย์นั้นมีมาก ดังนั้นวิธีการขยายพันธุ์โดยใช้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงเป็นทางเลือกที่มีความเหมาะสม เนื่องจากมีความสะดวกและช่วยให้สามารถขยายพันธุ์พรมมีได้จำนวนมากในเวลาอันสั้น ดังนั้นการวิจัยนี้จึงศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการชักนำและเพิ่มจำนวนต้นพรมมีในสภาพที่ปลอดเชื้อ

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพรมมี

ยอดอ่อนและตาข้างของพรมมีขนาด 2 เซนติเมตร ถูกนำมาล้างด้วยน้ำประปา จากนั้นแช่ลงในสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 30 วินาที แล้วย้ายลงแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ 15 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) 10 นาที ตามด้วยการแช่ในสารละลายคลอโรกซ์ 5 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) อีก 5 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้ออีก 3 ครั้ง ทำการตัดชิ้นส่วนพืชส่วนที่สัมผัสคลอโรกซ์ออกให้ชิ้นส่วนมีขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วย้ายลงเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติมน้ำตาล 20 กรัมต่อลิตร และเจลไรท์ 0.25 กรัมต่อลิตร นำขวดเนื้อเยื่อพรมมีวางไว้ในห้องบ่มที่ปรับอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส แสงสว่างจากหลอดไฟเรืองแสงสีขาว (white light fluorescence) ความเข้มแสงประมาณ 40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ให้แสง 16 ชั่วโมง ต่อวัน เป็นเวลา 1 สัปดาห์ เพื่อเตรียมต้นปราศจากการปนเปื้อนเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2.2 การศึกษาผลของ BA ที่มีต่อการเกิดยอดของต้นของพรมมี

นำชิ้นส่วนของพรมมีที่เตรียมไว้ปราศจากการปนเปื้อนที่มีขนาด ประมาณ 1 เซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA

เข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลทราย 20 กรัมต่อลิตร วางไว้ในห้องบ่มที่ปรับอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส แสงสว่างจากหลอดไฟเรืองแสงสีขาว (white light fluorescence) ความเข้มแสงประมาณ 40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ทำการเปลี่ยนอาหารทุก 3 สัปดาห์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 8 สัปดาห์ บันทึกภาพและข้อมูลจำนวนยอดที่เกิดขึ้น

2.3 การศึกษาผลของ NAA ที่มีต่อการเกิดรากของพรมมิ

นำต้นอ่อนต้นพรมมิที่ได้จากการทดลองที่ 1 ที่มีความสูงประมาณ 3 เซนติเมตร ย้ายลงเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ร่วมกับน้ำตาลทราย 20 กรัมต่อลิตร และวางไว้ในห้องบ่มที่ปรับอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส แสงสว่างจากหลอดไฟเรืองแสงสีขาว (white light fluorescence) ความเข้มแสงประมาณ 40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ที่เป็นเวลานาน 6 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดราก บันทึกภาพและข้อมูลการเกิดราก

2.4 การศึกษาผลของ BA ร่วมกับ NAA ที่มีต่อการเกิดต้นและรากของพรมมิ

นำต้นอ่อนต้นพรมมิที่ได้จากการทดลองที่ 1 ที่มีความสูงประมาณ 3 เซนติเมตร ย้ายลงเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA (0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ NAA (0, 0.05 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร) ร่วมกับน้ำตาลทราย 20 กรัมต่อลิตร และวางไว้ในห้องบ่มที่ปรับอุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส แสงสว่างจากหลอดไฟเรืองแสงสีขาว (white light fluorescence) ความเข้มแสงประมาณ 40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา

นาน 6 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดยอดและราก และบันทึกภาพ

2.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

การบันทึกผลการทดลอง ได้แก่ การสร้างยอดและรากใหม่ และการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาอื่น ๆ โดยข้อมูลในการทดลองมีจำนวน 30 ซ้ำต่อหน่วยการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ทำการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้โปรแกรมทางสถิติ statistics package for the social sciences (SPSS)

3. ผลการวิจัย

3.1 ผลของ BA ที่มีต่อการเกิดยอดของต้นพรมมิ

ผลของ BA ที่มีต่อการชักนำยอดของต้นพรมมิ โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 8 สัปดาห์ เมื่อเปรียบเทียบค่าที่ได้ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ สูตรที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (เป็นตัวควบคุม) จากตารางที่ 1 มีความสูงของต้นเฉลี่ยในอาหารสังเคราะห์สูตร MS สูงสุด แต่จำนวนต้นที่แตกกอพบว่ามีค่าเฉลี่ยต่ำสุด (1.5 ต้นต่อชิ้นเนื้อเยื่อ) เมื่อตรวจนับจำนวนการแตกยอดพบว่าในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดที่แตกยอดเฉลี่ยสูงสุด (8.0 ยอดต่อเนื้อเยื่อพืช) และจำนวนยอดที่แตกกอออกมาจากอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติม BA 0.2 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่แตกต่างกัน (รูปที่ 1) แต่ความสูงของยอดในแต่ละความเข้มข้นของ BA นั้นมีความสูงน้อยกว่าที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

ตารางที่ 1 อิทธิพลของ BA ที่มีต่อการเกิดยอดใหม่ของพรมมิที่เลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 8 สัปดาห์

ความเข้มข้น BA (mg/l)	ความสูงเฉลี่ยของยอด (cm)*	จำนวนยอดเฉลี่ย (ต้น)*
0	3.500 ^c	1.5 ^b
0.1	1.142 ^a	8.0 ^a
0.2	0.618 ^{ab}	6.6 ^a
0.5	0.640 ^b	6.1 ^a
1.0	0.566 ^b	2.0 ^b
2.0	0.418 ^b	1.5 ^b

*มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ($p < 0.05$)

^{abc} เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละแถว ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติโดยวิธีของตูเกียร์ (Tukey's test) ($p < 0.05$)



BA 0 mg/l



BA 0.1 mg/l



BA 0.2 mg/l



BA 0.5 mg/l



BA 1.0 mg/l



BA 2.0 mg/l

รูปที่ 1 จำนวนยอดและความยาวยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA ในแต่ละความเข้มข้นของ BA ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 8 สัปดาห์

3.2 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำราก

หลังจากนำยอดอ่อนสูงประมาณ 3 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (0, 0.1,

0.2, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) เพื่อชักนำให้เกิดราก หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ และเปรียบเทียบจำนวนรากที่เกิดขึ้นทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ได้ในแต่ละความเข้มข้นของ

NAA ด้วย Turkey's test ผลปรากฏว่าต้นอ่อนพรหมมีที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 7.9 ราก (ตารางที่ 2) แต่ในสูตรอาหารสังเคราะห์ MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตก็พบว่ามีการงอกออกมาเป็นอันดับที่ 2 มีค่าเฉลี่ยประมาณ 3.1 ราก (รูปที่ 2)

ตารางที่ 2 การเกิดรากของพรหมมีที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังการเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์

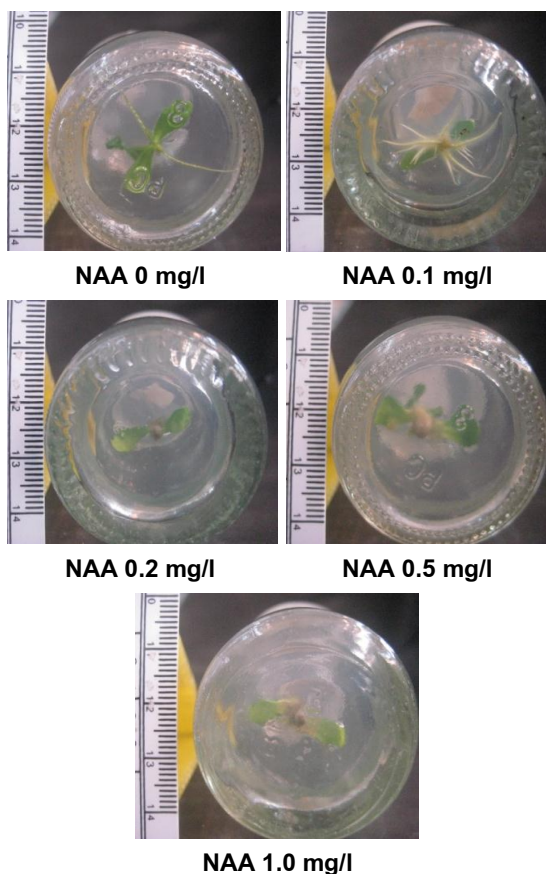
ความเข้มข้นของ NAA (mg/l)	จำนวนรากเฉลี่ย*
0.0	3.1 ^b
0.1	7.9 ^a
0.2	2.9 ^{bc}
0.5	0.6 ^{cd}
1.0	0.4 ^d

*มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ($p < 0.05$)

^{abc} เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละแถว ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติโดยวิธีของตูเกีร์ (Tukey's test) ($p < 0.05$)

3.3 ผลของ BA ร่วมกับ NAA ที่มีต่อการเกิดยอดและรากของต้นของพรหมมี

หลังจากนำยอดอ่อนขนาดประมาณ 3 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA (0, 0.1, 0.2, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ NAA (0, 0.05 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร) เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้งสองชนิดร่วมกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 8 สัปดาห์ ผลปรากฏดังตารางที่ 3 และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจำนวนยอด ความยาวยอด



รูปที่ 2 จำนวนรากที่เกิดขึ้นเมื่อย้ายต้นอ่อนลงเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์

และจำนวนรากที่เกิดขึ้นทางสถิติ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ได้ในแต่ละความเข้มข้นของ BA ร่วมกับ NAA ด้วย Turkey's test ผลปรากฏว่าต้นอ่อนพรหมมีที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ BA 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดสูงสุด ส่วนความสูงของยอดพบว่าอาหารสังเคราะห์ที่เติม NAA 0.05 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยความสูงของยอดอยู่ที่ 4.31-4.89

เซนติเมตร (ตารางที่ 3) และในสูตรอาหาร
สังเคราะห์ MS ที่เติม NAA 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร

ร่วมกับ BA 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้
ค่าเฉลี่ยจำนวนรากสูงสุดอยู่ที่ 18.3-24.3 ราก

ตารางที่ 3 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ NAA ที่เติมลงในอาหารสังเคราะห์
สูตร MS ต่อการเพิ่มจำนวนยอด ความสูงของยอด และจำนวนรากของต้นพรหม
หลังการเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์

NAA (mg/l)	BA (mg/l)	จำนวนยอด (ยอด)	ความสูงยอด (ซม.)	จำนวนราก (ราก)
0	0	1.10 ^a	2.15 ^{ab}	3.3 ^{ef}
0.05	0	1.50 ^a	4.31 ^{cd}	20.0 ^a
0.1	0	1.40 ^a	4.89 ^d	17.4 ^{bc}
0.05	0.1	8.7 ^{abc}	1.45 ^{ab}	24.3 ^a
0.05	0.2	9.3 ^{abc}	1.58 ^{ab}	18.3 ^b
0.05	0.5	14.0 ^{bcd}	1.18 ^{ab}	4.8 ^{ef}
0.05	1.0	16.7 ^{bcd}	1.17 ^{ab}	3.0 ^{ef}
0.1	0.1	5.2 ^{ab}	2.56 ^{abc}	15.3 ^{bc}
0.1	0.2	7.4 ^{abc}	1.89 ^{ab}	13.1 ^{cd}
0.1	0.5	15.6 ^{bcd}	1.41 ^{ab}	9.3 ^{de}
0.1	1.0	16.6 ^{bcd}	1.18 ^{ab}	7.4 ^{de}

*มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ($p < 0.05$)

^{abc} เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละแถว ตัวอักษรที่เหมือนกันหมายถึงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ
โดยวิธีของตุกีร์ (Tukey's test) ($p < 0.05$)

4. วิจัยรณ

จากการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของ
พรหมในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA
เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีจำนวนยอดที่
แตกยอดเฉลี่ยสูงสุด (8.0 ยอดต่อเนื้อเยื่อพืช) และ
จำนวนยอดที่แตกออกมาจากอาหารสังเคราะห์ MS
ที่เติม 0.2 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่แตกต่างกัน
ซึ่งการทดลองของ Sharma และคณะ (2010) ได้ทำ
การทดลองเพาะเลี้ยงพรหม พบว่าส่วนของข้อนั้น
สามารถแตกตาข้างได้ผลดี 100 เปอร์เซ็นต์ ใน
อาหาร MS ที่เติม BAP 0.2 ppm และสามารถชัก
นำยอด เพิ่มจำนวนยอดอย่างรวดเร็ว และให้ได้

จำนวนมากได้ เช่นเดียวกับการทดลองของ Binita
และคณะ (2005) พบว่าในการเพิ่มจำนวนต้นพรหม
ทำได้ผลดีในอาหาร MS ทั้งที่เป็นอาหารเหลวและ
กึ่งแข็งกึ่งเหลวที่เติม BA 1.1 μM และ IAA 0.2 μM
และทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ ส่วน
การทดลองของกรองทอง (2553) พบว่าการชักนำ
และเพิ่มจำนวนยอดและรากจากส่วนข้อต้นพรหม
โดยการนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ MS ที่
เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.0, 0.05 และ 0.1
mg/l ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.0, 0.1,
0.2, 0.5, 1.0 และ 2.0 mg/l พบว่าอาหารที่เติม BA
ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 mg/l สามารถชักนำให้เกิด

ยอดได้มากที่สุด และอาหารที่เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 mg/l สามารถเพิ่มความยาวยอดได้สูงที่สุดหลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ส่วนอาหารที่เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 mg/l ร่วมกับ BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 mg/l สามารถชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุด และอาหารที่เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 mg/l สามารถเพิ่มความยาวรากได้สูงที่สุดหลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ แต่ Shrivastava และ Rajani (1999) ได้ทดลองศึกษาการเกิดยอดของพรมมิ โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทำให้เกิดยอดจากการชักนำส่วนของใบและลำต้น ในอาหารแข็งสูตร MS พบว่าเกิดยอดขึ้นบนผิวของชิ้นส่วนใบดีที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 μ M และเจลไลต์ 0.2 เปอร์เซ็นต์ และจากการศึกษาชนิดของไซโตไคนิน 4 ชนิด (6-benzyladenine, thidiazuron, kinetin และ 2-isopentenyladenine) พบว่า thidiazuron และ 6-benzyladenine ให้ประสิทธิภาพสูงสุดในการชักนำให้เกิดตายอดจากการเติมที่ thidiazuron ลงในอาหารสามารถชักนำให้เกิดตายอดได้ถึง 93 ตายอด หลังจากทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนใบเป็นเวลา 7 สัปดาห์ แต่อย่างไรก็ตามการย้ายเนื้อเยื่อส่วนใบในอาหารสูตร MS ที่เติม 2.2 μ M benzyladenine จะให้จำนวนตายอดที่มากขึ้น เมื่อทำการย้ายเนื้อเยื่อสามครั้ง เปอร์เซ็นต์ของยอดและจำนวนยอดต่อชิ้นเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้นในช่วง 3 รอบ ของการย้ายชิ้นเนื้อเยื่อ ทำให้สะดวกต่อการชักนำราก ในการทดลองยอดที่ได้ถูกแยกออกไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS และชักนำให้เกิดรากในอาหารที่เติม 4.9 μ M IBA หลังจากนั้น 3 สัปดาห์ย้ายลงปลูก 100 เปอร์เซ็นต์ (Tiwari *et al.*, 2001)

จากรายงานการศึกษา เรื่อง micropropagation ใน *Bacopa monnieri* L. ซึ่งเป็นพืชสมุนไพร จาก Shervarayan Hills, Salem, Tamil Nadu, India ศึกษาผลของออกซิน (IAA, NAA และ 2,4-D)

และ cytokinins (BA, KIN และ TDZ) ชักนำให้เกิดยอด พบว่า IAA และ TDZ สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดี และชักนำให้เกิดแคลลัสบนอาหารสูตร Murashige และ Skoog (MS) ที่เติม NAA, 2,4-D และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ยอดที่เกิดจากชิ้นเนื้อเยื่อส่วนใบและข้อที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS สามารถเกิดขึ้นได้ภายในระยะเวลา 9 วัน (Vijayakumar *et al.*, 2010) และจากการทดลองพบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS ที่มีการเติม NAA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า NAA มีผลต่อการเกิดยอดของต้นพรมมิ โดยอาหารที่มีการเติม NAA ที่ความเข้มข้น 0.1 ppm เป็นสูตรที่ให้จำนวนยอดมากที่สุดคือ 7.9 ยอด ซึ่งแตกต่างจากสูตรอาหารอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับการทดลองของ Sharma และคณะ (2010) ได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงพรมมิ พบว่าสามารถชักนำให้เกิดรากได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพาะเลี้ยงส่วนยอดพรมมิในอาหาร MS ที่เติม IBA 0.15 mg/l

5. สรุป

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการชักนำยอดพรมมิโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนข้อบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มจำนวนยอดต้นพรมมิได้สูงสุด และอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้สูงสุดถึง 7.9 ราก และเมื่อเพาะเลี้ยงยอดอ่อนพรมมิลงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA พบว่าที่ความเข้มข้นของ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้ค่าเฉลี่ยจำนวนยอดสูงสุด ส่วนความสูงของยอดพบว่าอาหารสังเคราะห์ที่เติม NAA 0.05 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยความสูงของยอดอยู่ที่

4.31-4.89 เซนติเมตร และสูตรอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติม NAA 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0.1 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนรากสูงสุดอยู่ที่ 18.3-24.3 ราก

6. เอกสารอ้างอิง

กรองทอง ชีบังเกิด, 2553, การศึกษาอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีต่อการชักนำและเพิ่มจำนวนแคลลัส ยอด และรากต้นพรหมมี [*Bacopa monnieri* (L.) Pennell] ในสภาพปลอดเชื้อ, โครงการปัญหาพิเศษ, ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต, ปทุมธานี.

Binita, C., Ashok, D. and Yogesh, J., 2005, *Bacopa monnieri* (L.) Pennell: A rapid, efficient and cost effective micropropagation, Plant Tiss. Cult. Biotech. 15: 167-175.

Sharma, S., Kamal, B., Rathi, N., Chauhan, S., Jadon, V., Vats, N., Gehlot, A. and Arya, S., 2010, *In vitro* rapid and mass multiplication of highly valuable medicinal plant *Bacopa monnieri* (L.) Wettst, Afr. J. Biotechnol. 9: 8318-8322.

Shrivastava, N. and Rajani, M., 1999, Multiple shoot regeneration and tissue culture studies on *Bacopa monnieri* (L.) Pennell, Plant Cell Rep. 18: 919-923.

Tiwari, V., Tiwari K.N. and Singh, B.D., 2001, Comparative studies of cytokinins on *in vitro* propagation of *Bacopa monnieri*, Plant Cell Tiss. Organ Cult. 66: 9-16.

Vijayakumar, M., Vijayakumar, R. and Stephen, R., 2010, *In vitro* propagation of *Bacopa monnieri* L.: A multipurpose medicinal plant, Ind. J. Sci. Technol. 3: 781-786.