

ชิ้นส่วนที่เหมาะสมของต้นลินเดอเนียร์เตตราพลอยด์ ที่ขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ

Influence of Explant in Tetraploid *Lindernia* sp. to Propagation *In Vitro* Culture

ธัญญา เตชะศีลพิทักษ์, เฌอมาลย์ วงศ์ขาวจันทร์,

บันทิตา เพ็ญสุริยะ และนุชรัฐ บาลลา

ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

ณัฐพงศ์ จันจุฬา*

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 13180

Thunya Taychasinpitak, Shermarl Wongchaochant,

Banthita Pensuriya and Nutcharat Balla

Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok Campus,

Ladyao, Chatuchak, Bangkok, 10900

Nattapong Chanchula*

Faculty of Agricultural Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under Royal Patronage,

Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 13180

บทคัดย่อ

การศึกษาชิ้นส่วนของการขยายพันธุ์ต้นลินเดอเนียร์ที่เป็นเตตราพลอยด์ โดยใช้ส่วนของใบและข้อในระบบปลอดเชื้อ ดำเนินการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการปรับปรุงพันธุ์พืชและเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาพืชสวน ระหว่างเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2558 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2559 มีการทดลองเปรียบเทียบการขยายพันธุ์ต้นลินเดอเนียร์ที่เป็นเตตราพลอยด์โดยใช้ส่วนของใบและข้อ ผลการทดลองพบว่าจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชทั้งสองแบบคือในส่วนของใบและส่วนข้อเป็นระยะเวลา 45 วัน บนอาหารกึ่งแข็งสูตร $\frac{1}{2}$ MS ชิ้นส่วนของใบมีอัตราการรอดชีวิตที่ต่ำกว่าชิ้นส่วนของข้อร้อยละ 70 และ 100 ตามลำดับ ส่วนสูงของต้นพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจากชิ้นส่วนของข้อ (2.42 ซม.) ให้ความสูงที่มากกว่าจากการเพาะเลี้ยงจากชิ้นส่วนของใบ (1.41 ซม.) ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ จำนวนของยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจากชิ้นส่วนของใบ (7.90 ยอด) มีมากกว่าจากการเพาะเลี้ยงจากส่วนของข้อ (2.87 ยอด) ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ความยาวรากของต้นพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจากชิ้นส่วนของข้อ (3.09 ซม.) ให้ความยาวรากมากกว่าจากการเพาะเลี้ยงจากชิ้นส่วนของใบ (1.82 ซม.) ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมี

นัยสำคัญ และจำนวนของรากที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจากชิ้นส่วนของใบ (5.63 ซม.) มีมากกว่าจากการเพาะเลี้ยงจากส่วนของข้อ (4.53 ซม.) แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

คำสำคัญ : ลินเดอเนีย; เทตราพลอยด์; การขยายพันธุ์; การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Abstract

Influence of explant to study about leaf and node explants for propagation in tissue culture. The experiments were conducted at the Laboratory of Plant Breeding and Biotechnology. Department of Horticulture. Between November, 2015 and March, 2016. A trial comparing the propagation are used by a leaf and node and the results showed that the plants are growth by part of leaf and node for a period of 45 days on semi-solid medium $\frac{1}{2}$ MS the survival was 70 and 100 percent respectively. Part of node (2.42 cm) to a height greater than the parts of the plant leaves (1.41 cm), which is the difference statistically significant. The number of shoots made from the parts of the leaves (7.90 shoots) was higher than the portion of the node (2.87 shoots) with the difference statistically significant. The root length of plants from the of a node (3.09 cm) higher than the length of roots grown from pieces of leaves (1.82 cm), which are different statistically significant and the number of roots of the plant from a piece of leaf (5.63 cm) was higher than the plant from a piece of node (4.53 cm) but not significantly different statistically.

Keywords: Lindernia; tetraploid; propagation; tissue culture

1. คำนำ

ลินเดอเนียเป็นพืชล้มลุก ลำต้นเป็นเหลี่ยมแผ่เลื้อยไปตามพื้นดิน ใบเป็นใบเดี่ยวเรียงตรงข้าม รูปไข่หรือรูปขอบขนานแกมรูปไข่ กว้าง 4-15 มิลลิเมตร ยาว 6-19 มิลลิเมตร ปลายใบมนหรือแหลมฐานใบรูปลิ้น ขอบใบหยักซี่ฟันเลื้อยหรือเรียบ ใบมีขนทั้งสองด้าน โดยที่ผิวใบด้านบนมีขนกระจายทั่วทั้งแผ่นใบ ส่วนผิวใบด้านล่างมีขนกระจายทั่วทั้งใบ แต่มีมากบริเวณเส้นใบ ก้านใบยาว 1-7 มิลลิเมตร ดอกเป็นดอกเดี่ยวออกที่ซอกใบ ก้านดอกยาว 4-18 มิลลิเมตร กลีบเลี้ยงเชื่อมกันเป็นถ้วยที่ฐานยาว 3-4 มิลลิเมตร ปลายแยกเป็น 5 แฉก ผิวด้านนอกมีขน กลีบดอกรูปปากเปิดสีม่วง ส่วนฐานเชื่อมกันเป็นหลอดยาว 7-11 มิลลิเมตร กลีบปากบน 1 กลีบ รูปใบหอก ส่วนปลายแยกเล็กน้อย กลีบปากล่าง 3

กลีบ เกสรเพศผู้มีสองคู่ยาวไม่เท่ากัน เกสรเพศผู้ขนาดสั้นอยู่บริเวณฐานกลีบปากบน เกสรเพศผู้ขนาดยาวอยู่สลับบนฐานของแฉกกลีบปากล่าง เกสรเพศเมียรังไข่อยู่เหนือวงกลีบรูปรี มีฐานดอกรองรับ ก้านชูเกสรเป็นแท่งยาว 4-6 มิลลิเมตร ผลแบบแคปซูลยาว 3-4 มิลลิเมตร กว้าง 2-2.5 มิลลิเมตร มีกลีบเลี้ยงหุ้มทั้งผล ปลายผลมีก้านเกสรเพศเมียและยอดเกสรเพศเมียติดอยู่ เมล็ดรูปกลมขนาดเล็กมีจำนวนมาก (Smitinand, 1990) พบในแถบทวีปแอฟริกา อเมริกา ออสเตรเลีย เอเชียเขตร้อนและเขตอบอุ่น ขึ้นบริเวณดินทรายขึ้น นาข้าวแปลงพืชไร่ สวนผลไม้ สวนยางพารา สวนมะพร้าว และสวนปาล์มน้ำมัน ขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด ออกดอกตลอดปี จึงเหมาะสมที่นำมาใช้เป็นไม้กระถางและพืชคลุมดิน ซึ่งพืชสกุล *Lindernia* ที่พบ

โดยทั่วไปเป็นดิพลอยด์ (diploid) ซึ่งจำนวนโครโมโซมแตกต่างกันไป เท่าที่มีรายงานพบว่ามีจำนวนโครโมโซม $2n = 28$, $2n = 32$ และ $2n = 42$ (Kostermans *et al.*, 1987; Shinha, 1987) แต่ในการทดลองครั้งนี้เพื่อศึกษาชิ้นส่วนที่เหมาะสมที่จะขยายพันธุ์ต้นลินเดอเนียร์ tetraploid ในสภาพปลอดเชื้ออย่างเหมาะสมเพื่อรักษาสายพันธุ์ของต้นลินเดอเนียร์

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การฟอกฆ่าเชื้อต้นลินเดอเนียร์

คัดเลือกต้นลินเดอเนียร์ที่มีความสมบูรณ์ปราศจากโรคและแมลงรบกวน จดน้ำเป็นเวลา 3-5 วัน ก่อนนำมาฟอกฆ่าเชื้อตาข้าง และตายอดด้วยสารละลายคลอโรกซ์ (Clorox, 1.4 % sodium hypochlorite) ความเข้มข้น 10 % นาน 10 นาที แล้วตามด้วยสารละลายคลอโรกซ์ 5 % นาน 10 นาที ล้างน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ตัดชิ้นส่วนที่โดนคลอโรกซ์ทิ้ง แล้วตัดตาข้างตรงซอกใบเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม BA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมลิตร และวุ้น gellan gum 2.5 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงอุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน และความเข้มแสง 1,500 ลักซ์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 1 เดือน เพื่อชักนำให้เกิดต้นอ่อนเป็นจำนวนมาก

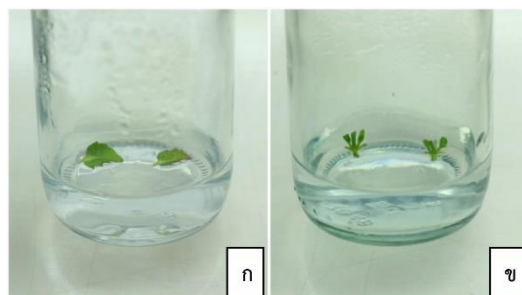
2.2 การเตรียมต้นลินเดอเนียร์สำหรับใช้ทดลอง

ตัดแยกต้นอ่อนให้มีขนาดประมาณ 1-2 เซนติเมตร ลงเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต น้ำตาลซูโครส 30 กรัมลิตร และวุ้น gellan gum 2.5 กรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงอุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน และความเข้มแสง 1,500 ลักซ์ เปลี่ยนอาหารทุก ๆ

2 สัปดาห์ จนครบ 2 เดือน เพื่อลดการตกค้างของฮอร์โมนในเซลล์พืช

2.3 การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของลินเดอเนียร์

ตัดชิ้นส่วนของลินเดอเนียร์ tetraploid โดยใช้ใบที่มีหูใบและข้อเพียง 1 ข้อเท่านั้น และมีตาข้างเพียง 2 ตา ดังรูปที่ 1 โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD, completely randomized design) โดยเปรียบเทียบการเจริญเติบโตจำนวน 15 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ชิ้นพืช ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต และเพาะเลี้ยงทดสอบเป็นเวลา 45 วัน และบันทึกผลการทดลองโดยเก็บข้อมูลอัตราการรอดชีวิต ความสูงของต้น จำนวนยอด จำนวนราก และความยาวราก ทดสอบความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วย t-test

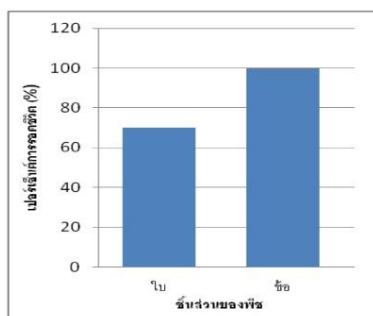


รูปที่ 1 ชิ้นส่วนของพืชที่ใช้ทดลอง (ก) ชิ้นส่วนของใบ และ (ข) ชิ้นส่วนของข้อ

3. ผลการวิจัย

3.1 เปอร์เซนต์การรอดชีวิตจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชทั้งสองแบบคือในส่วนของใบและส่วนข้อ

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชทั้งสองแบบคือในส่วนของใบและส่วนข้อเป็นระยะเวลา 45 วัน บนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS พบว่าชิ้นส่วนของใบมีอัตราการรอดชีวิตที่ต่ำกว่าชิ้นส่วนของข้อร้อยละ 70 และ 100 ตามลำดับ (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนใบและข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS เป็นเวลา 45 วัน



รูปที่ 3 ต้นลินเดอเนียร์ที่เป็นเตตราพลอยด์ซึ่งเจริญจากชิ้นส่วนของข้อเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS เป็นเวลา 45 วัน จากรูปแสดงให้เห็นว่ามีการแตกยอดน้อยกว่าจากชิ้นส่วนของใบและมีลำต้นที่ใหญ่กว่า

3.2 ความสูงและจำนวนยอด

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชทั้งสองแบบคือในส่วนของใบและส่วนข้อเป็นระยะเวลา 45 วัน บนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS พบว่าส่วนสูงของต้นพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจากชิ้นส่วนของข้อ (2.42 ซม.) รูปที่ 3) ให้ความสูงที่มากกว่าจากการเพาะเลี้ยงจากชิ้นส่วนของใบ (1.41 ซม.) (รูปที่ 4) ซึ่งมีความ

แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ในส่วนของจำนวนยอดพบว่าจำนวนของยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจากชิ้นส่วนของใบ (7.90 ซม.) มีมากกว่าจากการเพาะเลี้ยงจากส่วนของข้อ (2.87 ซม.) ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 1)



รูปที่ 4 ต้นลินเดอเนียร์ที่เป็นเตตราพลอยด์ซึ่งเจริญจากชิ้นส่วนของใบเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS เป็นเวลา 45 วัน จากรูปแสดงให้เห็นว่ามีการแตกยอดเป็นจำนวนมาก

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยของความสูงและจำนวนยอดจากการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนพืชใบและข้อ

ชิ้นส่วนพืช	ความสูง (cm)	จำนวนยอด
ใบ	1.41 b	7.90 a
ข้อ	2.42 a	2.87 b
t-test	*	*

3.3 ความยาวรากและจำนวนราก

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชทั้งสองแบบคือในส่วนของใบและส่วนข้อเป็นระยะเวลา 45 วัน บนอาหารกึ่งแข็งสูตร ½ MS พบว่าความยาวรากของต้นพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจากชิ้นส่วนของข้อ

(3.09 ซม.) ให้ความยาวรากมากกว่าจากการเพาะเลี้ยงจากชิ้นส่วนของใบ (1.82 ซม.) ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ในส่วนของจำนวนรากพบว่าจำนวนของรากที่ได้จากการเพาะเลี้ยงจากชิ้นส่วนของใบ (5.63 ซม.) มีมากกว่าจากการเพาะเลี้ยงจากส่วนของข้อ (4.53 ซม.) (ตารางที่ 2) แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยของความยาวรากและจำนวนรากจากการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนพืชใบและข้อ

ชิ้นส่วนพืช	ความยาวราก (cm)	จำนวนราก
ใบ	1.82 b	5.63
ข้อ	3.09 a	4.53
t-test	*	ns

^{ab}ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย t-test

*แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

4. วิจัยการ

ผลการทดลองพบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตจากการเพาะเลี้ยงด้วยชิ้นส่วนของใบมีอัตราการรอดชีวิตที่ต่ำกว่าการเพาะเลี้ยงโดยใช้ชิ้นส่วนของข้อ เจริญได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mahdi และคณะ (2009) ได้ทดลองเปรียบเทียบสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS, ½ MS, C2D (chee and pool) and WPM ที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15 และ 20 µM BA และชิ้นส่วนของพืชคือใบและข้อในดินอนุ่งพื้นเมือง พบว่าหากใช้ชิ้นส่วนพืชโดยใช้ส่วนของข้ออย่างเดียวกจะทำให้ต้นพืชที่เจริญมีจำนวนรากและยอดแตกออกมา

น้อย และหากใช้ชิ้นส่วนพืชโดยใช้ส่วนของใบจะมีอัตราการรอดชีวิตที่ต่ำ และชิ้นส่วนที่เหมาะสมที่จะใช้ในการทดลองเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ต่อไปคือชิ้นส่วนของข้อซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Sungkaew และคณะ (2015) ที่ทดลองใช้ใบและข้อในการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาด้วยสารละลายโคลชิซิน พบว่าข้อมีอัตราการรอดชีวิตมากที่สุด และสามารถเพิ่มโอกาสในการกลายพันธุ์ได้อีกด้วย และในขณะเดียวกันหากย้ายต้นกล้าออกปลูกในโรงเรือน ต้นที่ได้จากเจริญเติบโตจากข้อจะมีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าจากชิ้นส่วนอื่น ๆ (กมลทิพย์, 2557)

5. สรุป

ต้นพืชที่เจริญจากส่วนของข้อมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตมากกว่าต้นที่เจริญจากชิ้นส่วนของใบ ดังนั้นการใช้ส่วนของข้อของต้นลินเดอเนียร์ที่เป็นเตตราพลอยด์สำหรับการขยายพันธุ์ในระบบปลอดเชื้อมีความเหมาะสมมากกว่าการใช้ชิ้นส่วนของใบ เพราะต้นที่ได้มีความสมบูรณ์มากกว่าต้นที่เกิดจากใบ

6. รายการอ้างอิง

กมลทิพย์ สังข์แก้ว, 2557, การชักนำให้เกิดโพลีพลอยดีในลินเดอเนียร์ด้วยการใช้สารโคลชิซิน ชนิดเม็ดภายใต้สภาพปลอดเชื้อ, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Kostermans, A.J.G.H. and Tjitrosoepomo, G., 1987, *Lindernia crustacea* – Plantwise Technical Factsheet, Available Source: <http://www.plantwise.org/KnowledgeBank/Datasheet.aspx?dsid=30864.html>, August 24, 2016.

- Mahdi, N.N., Siahsar, B. and Heidari, A., 2009, Different media effects and position of leaf and node on *in vitro* micropropagation, New Biotechnol. 25: 315.
- Murashige, T. and Skoog, F., 1962, Revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures, Physiologia Plantarum 15: 473-497.
- Smitinand, T., 1990, Flora of Thailand Volume Five Part Two, The Forest Herbarium, Royal Forest Department, Bangkok.
- Shinda, A.R.P., 1987, Colchicoidy in *Lindernia crustacean* (L.) F. Muell., Cytologia 52: 151-155.
- Sungkaew, K., Taychasinpitak, T., Wongchaochant, S. Sukprasert, P. and Kikuchi, S., 2015, Effect of gout drug treatments on survival rate and morphological change of *Lindernia* sp. *in vitro*, Trans. J. Eng. Manag. Appl. Sci. Technol. 6(4): 191-201.