

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มจำนวนยอด และการชักนำให้เกิดรากของกะเพราแดงในสภาพปลอดเชื้อ

Effect of Plant Growth Regulators on *In Vitro* Shoot Multiplication and Root Induction of *Ocimum sanctum* L. (Holy Basil Purple Type)

เจิมอรุณ อุทัยแจ่มศรีผล, Yeawapha Jirakiattikul* และภาณุมาศ ฤทธิไชย

สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

อรุณพร อิฐรัตน์

สถานการแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Jermaroon Autajamsripon, Yaowapha Jirakiattikul* and Panumart Rithichai

Department of Agricultural Technology, Faculty of Science and Technology,

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

Arunporn Itharat

Department of Applied Thai Traditional Medicine, Faculty of Medicine, Thammasat University,

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

บทคัดย่อ

กะเพราแดง (*Ocimum sanctum* L.) เป็นพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง แต่การปลูกในสภาพธรรมชาติมักเกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรม เนื่องจากเป็นพืชที่ผสมข้ามกับพืชอื่น ๆ ในสกุลเดียวกันได้ การขยายพันธุ์จึงจำเป็นต้องใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อเพิ่มจำนวนต้นและให้ได้ตรงตามพันธุ์ การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มจำนวนยอดจากชิ้นส่วนข้อ และชักนำให้เกิดรากของกะเพราแดงในสภาพปลอดเชื้อ ในการเพิ่มจำนวนยอด เพาะเลี้ยงข้อกะเพราแดงบนอาหารสูตร MS (Murashige & Skoog) ที่เติม BA (6-benzyladenine) ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 mg/L ร่วมกับ IAA (indole-3-acetic acid) หรือ NAA (1-naphthylacetic acid) ความเข้มข้น 0 และ 0.5 mg/L นาน 4 สัปดาห์ พบว่าข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารทุกสูตรมีการพัฒนาของยอดใหม่ 100 % แต่การเติม NAA และ IAA ส่งผลให้เกิดแค

ลัสสบริเวณโคนยอด อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 mg/L เพียงอย่างเดียว มีจำนวนยอดที่พัฒนา 3.00 ± 0.43 ยอด ความยาวยอด 0.71 ± 0.24 cm และจำนวนข้อต่อยอด 1.81 ± 0.26 ข้อ ส่วนการชักนำให้เกิดราก พบว่ายอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS และ MS ที่เติม NAA และ IBA (indole-3-butyric acid) ความเข้มข้น 0 1.0 และ 1.5 mg/L นาน 4 สัปดาห์ มีการพัฒนาของราก 100 % แต่การเติม NAA ส่งผลให้เกิดแคลลัสบริเวณโคนยอด อาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS มีจำนวนรากที่พัฒนา และความยาวรากเท่ากับ 12.2 ± 4.20 ราก และ 2.08 ± 0.29 cm ตามลำดับ

คำสำคัญ : กะเพราแดง; การเพิ่มจำนวนยอด; การชักนำให้เกิดราก; ไซโทไคนิน; ออกซิน

Abstract

Ocimum sanctum L. is a medicinal plant that contains high antioxidant activity. Under natural conditions, genetic variation always occurs because of cross-pollination among genus. However, plant tissue culture can provide a number of plants with genetic stability. Therefore, the objective of this study was to investigate the effect of plant growth regulators on shoot multiplication from single node explants and root induction of *O. sanctum* under aseptic conditions. For shoot multiplication, single node explants were cultured on MS (Murashige and Skoog) medium supplemented with 0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg/L BA (6-benzyladenine) in combination with 0 and 0.5 mg/L IAA (indole-3-acetic acid) or NAA (1-naphthylacetic acid) for 4 weeks. The results showed that 100 % shoot proliferation occurred on all tested media. However, supplementation with IAA and NAA resulted in callus formation at the base of the shoot. The number of shoots, shoot length and number of nodes per shoot obtained on MS medium supplemented with 0.5 mg/L BA of 3.00 ± 0.43 shoots, 0.71 ± 0.24 cm and 1.81 ± 0.26 nodes, respectively. For root induction, the shoots cultured on $\frac{1}{2}$ MS or MS medium supplemented with 0 1.0 or 1.5 mg/L NAA and IBA (indole-3-butyric acid) for 4 weeks performed 100 % of root formation but NAA also resulted in callus at the base of the shoot. The number of roots and root length obtained on $\frac{1}{2}$ MS medium of 12.2 ± 4.20 roots and 2.08 ± 0.29 cm, respectively.

Keywords: *Ocimum sanctum* L.; shoot multiplication; root induction; cytokinin; auxin

1. บทนำ

กะเพรา (*Ocimum sanctum* L.) เป็นพืชในวงศ์ Lamiaceae มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศอินเดียและมาเลเซีย ในทางการแพทย์อายุรเวท (Ayurvedic medicine) ของประเทศอินเดียจัดให้กะเพราเป็น

“ราชินีแห่งสมุนไพร” (Queen of herb) [1] เนื่องจากใบกะเพรามีองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยที่สำคัญซึ่งเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน [2] และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ [3] สารสกัดจากใบกะเพราสามารถใช้ในการรักษาโรคมามากมาย เช่น แก้กท้องอืด รักษาอาการโรค

ผิวหนึ่ง บรรเทาอาการปวด ลดไข้ ลดระดับน้ำตาลในเลือด ด้านการอักเสบ และต่อต้านเชื้อ HIV-I [4] กะเพราแบ่งได้ 2 สายพันธุ์ คือ กะเพราขาว และกะเพราแดง โดยกะเพราขาวจะมีลำต้น และใบสีเขียวอมขาว ส่วนกะเพราแดงจะมีลำต้น และใบสีเขียวอมม่วงแดงมีกลิ่นแรงกว่ากะเพราขาว อีกทั้งมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาสูงกว่ากะเพราขาวจึงนิยมนำมาใช้ในการผลิตยา [5] จากสรรพคุณที่หลากหลายของกะเพราแดงทำให้เป็นที่ต้องการมากทางการแพทย์ แต่เนื่องจากพืชชนิดนี้สามารถผสมข้ามกับพืชอื่น ๆ ในสกุลเดียวกัน เช่น กะเพราขาว โหระพา (*O. basilicum*) แมงลัก (*O. americanum*) ทำให้เกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรม และอาจส่งผลกระทบต่อประกอบของสารทุติยภูมิตามที่ Razdan (2003) อ้างโดย [6] รายงานไว้ ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชที่มีประสิทธิภาพสามารถเพิ่มจำนวนต้นพืชอย่างรวดเร็ว และรักษาความคงตัวของพันธุกรรมได้ อีกทั้งเป็นเทคนิคทางเลือกหนึ่งสำหรับผลิตสารทุติยภูมิจากพืชสมุนไพรเพื่อให้มีปริมาณเพียงพอต่อความต้องการทางการแพทย์ [7] ซึ่งการเพิ่มจำนวนยอดและการชักนำให้เกิดรากเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อขยายพันธุ์ [8]

โดยไซโทไคนิน (cytokinin) และออกซิน (auxin) เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่นิยมใช้ในการเพิ่มจำนวนยอด และชักนำให้เกิดราก มีผลทำให้ชิ้นส่วนพืชเกิดการแบ่งเซลล์ ยืดยาว ตลอดจนเปลี่ยนแปลงและพัฒนาไปเป็นอวัยวะอย่างสมบูรณ์ [9] อย่างไรก็ตาม ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมจะแตกต่างกันไปในพืชแต่ละชนิด [8] มีรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกะเพราและพืชในสกุลเดียวกันแล้ว พบว่าการเพาะเลี้ยงปลายยอด และข้อกะเพราบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.0 mg/L ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5

mg/L นาน 3 สัปดาห์ สามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุดเท่ากับ 7 และ 9 ยอด ตามลำดับ [10] เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงแคลลัสที่พัฒนาจากชิ้นส่วนใบบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 mg/L ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.5 mg/L นาน 4 สัปดาห์ พบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดสูงสุดเท่ากับ 23.8 ยอด [7] ในขณะที่การเพิ่มจำนวนยอดของยี่หระ (*O. gratissimum*) จะประสบความสำเร็จเมื่อเพาะเลี้ยงข้อบนอาหารสูตร MS ที่เติม 0.5 mg/L BAP ร่วมกับ 0.25 mg/L IAA [11] สำหรับการชักนำให้กะเพราในสภาพปลอดเชื้อเกิดรากมีการศึกษาแล้ว เช่น Banu และ Bari (2007) พบว่าการเพาะเลี้ยงยอดกะเพราบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.1 mg/L นาน 8 สัปดาห์ สามารถชักนำให้เกิดรากสูงสุดเท่ากับ 5.66 ราก และมีความยาวรากเฉลี่ยเท่ากับ 3.55 cm [12] ในขณะที่ Sharma และคณะ (2014) พบว่าอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 1.5 mg/L สามารถชักนำให้ยอดที่พัฒนาเกิดรากสูงสุด 6.0 ราก และมีความยาวรากเฉลี่ยเท่ากับ 3.13 cm เมื่อเพาะเลี้ยงยอดนาน 4 สัปดาห์ [13] จากรายงานต่าง ๆ ข้างต้นเห็นได้ว่า BA, NAA และ IAA ความเข้มข้นต่าง ๆ มีผลต่อการเพิ่มจำนวนยอด และอาหารสูตร ½ MS และ MS ที่เติม NAA หรือ IBA ความเข้มข้นต่าง ๆ มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากของพืชในสกุลนี้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ BA ร่วมกับ IAA หรือ NAA ต่อการเพิ่มจำนวนยอด และอาหารสูตร ½ MS และ MS ที่เติม NAA หรือ IBA ต่อการชักนำให้เกิดรากของกะเพราแดงในสภาพปลอดเชื้อ

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 ผลของ BA ร่วมกับ IAA และ NAA ต่อการเพิ่มจำนวนยอด

นำยอดกะเพราแดงที่พัฒนาในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตรบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 mg/L เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ มาตัดใช้เฉพาะส่วนข้อ เพาะเลี้ยงข้อบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 mg/L ร่วมกับ IAA หรือ NAA ความเข้มข้น 0 และ 0.5 mg/L นำไปวางในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 ± 2 °C ให้แสง 16 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) มี 13 สูตรอาหาร แต่ละสูตรมี 4 ข้ำ แต่ละข้ำมี 5 ขวด และแต่ละขวดมี 1 ชิ้น บันทึกการเกิดยอด (%) จำนวนยอด ความยาวยอด (cm) และจำนวนข้อต่อยอด

2.2 ผลของ NAA และ IBA ต่อการชักนำให้เกิดราก

ตัดยอดกะเพราแดงอายุ 6 สัปดาห์ ที่พัฒนามบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 mg/L ให้มีความยาวยอด 1.5-2 cm นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS และ MS ที่เติม NAA และ IBA ความเข้มข้น 0 1.0 และ 1.5 mg/L นำไปวางในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตามที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้นเป็นเวลา 4 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 10 สูตรอาหาร แต่ละสูตรมี 4 ข้ำ แต่ละข้ำมี 5 ขวด และแต่ละขวดมี 1 ยอด บันทึกการเกิดราก (%) จำนวนราก และความยาวราก (cm)

2.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ตามวิธีการ CRD เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 % โดยโปรแกรม SAS

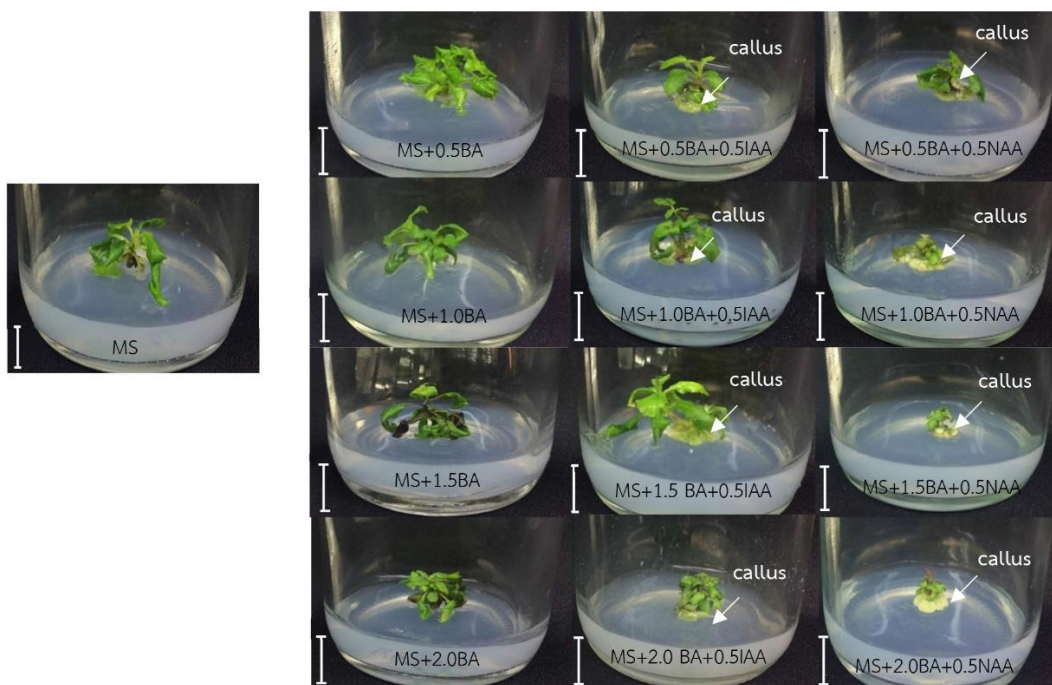
3. ผลและวิจารณ์ผล

3.1 ผลของ BA ร่วมกับ IAA และ NAA ต่อการเพิ่มจำนวนยอด

การทดลองพบว่าข้อของกะเพราแดงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ร่วมหรือไม่ร่วมกับ IAA หรือ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ มีการพัฒนาของยอดใหม่ 100 % (รูปที่ 1) แต่จำนวนยอดที่พัฒนาความยาวยอด และจำนวนข้อต่อยอดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 mg/L มีจำนวนยอดที่พัฒนาสูงสุดเท่ากับ 3.10 ± 0.62 ยอด แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับจำนวนยอดที่พัฒนามบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 mg/L (3.00 ± 0.43 ยอด) 1.0 mg/L (2.50 ± 0.26 ยอด) และ 1.5 mg/L (2.75 ± 0.50 ยอด) การเติม IAA หรือ NAA ลงในอาหารเพาะเลี้ยงส่งผลให้จำนวนยอดที่พัฒนาลดลง โดยยอดที่พัฒนามบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 mg/L ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 mg/L มีจำนวนยอดน้อยที่สุดเท่ากับ 1.40 ± 0.16 ยอด (รูปที่ 2A) จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า BA ส่งผลต่อการเพิ่มจำนวนยอดของกะเพราแดงเมื่อใช้ชิ้นส่วนข้อในการเพาะเลี้ยง โดย BA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโทไคนินที่ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ ส่งเสริมการเจริญเติบโตทางด้านลำต้น รวมถึงชักนำให้ชิ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงเกิดการพัฒนารูปร่างของตาพิเศษ (adventitious bud) และเกิดยอด [14] ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Sharma และคณะ (2014) ที่พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA เพียงอย่างเดียวที่ความเข้มข้น 1.5 mg/L เหมาะสมต่อการชักนำให้ข้อของกะเพราเกิดยอด [13] อย่างไรก็ตาม Gopi และคณะ (2006) พบว่าการเติม IAA ความเข้มข้น 0.25 mg/L ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 0.5 mg/L ลงในอาหารเพาะเลี้ยงส่งเสริมให้ข้อของแมงลักเกิดการพัฒนารูปร่างยอดได้สูงสุด (14 ยอด) [11] หรือในกะเพราเกิดการ

พัฒนาของยอดสูงสุด (9 ยอด) เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นบนอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 mg/L ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 2.0 mg/L [10] แต่จากการทดลองนี้ พบว่าการเติม IAA หรือ NAA ซึ่งเป็นสารควบคุมการ

เจริญเติบโตในกลุ่มออกซินที่ความเข้มข้น 0.5 mg/L ร่วมกับ BA มีผลทำให้จำนวนยอดที่พัฒนาลดลง และมีการพัฒนาของแคลลัสบริเวณโคนของยอด (รูปที่ 1)



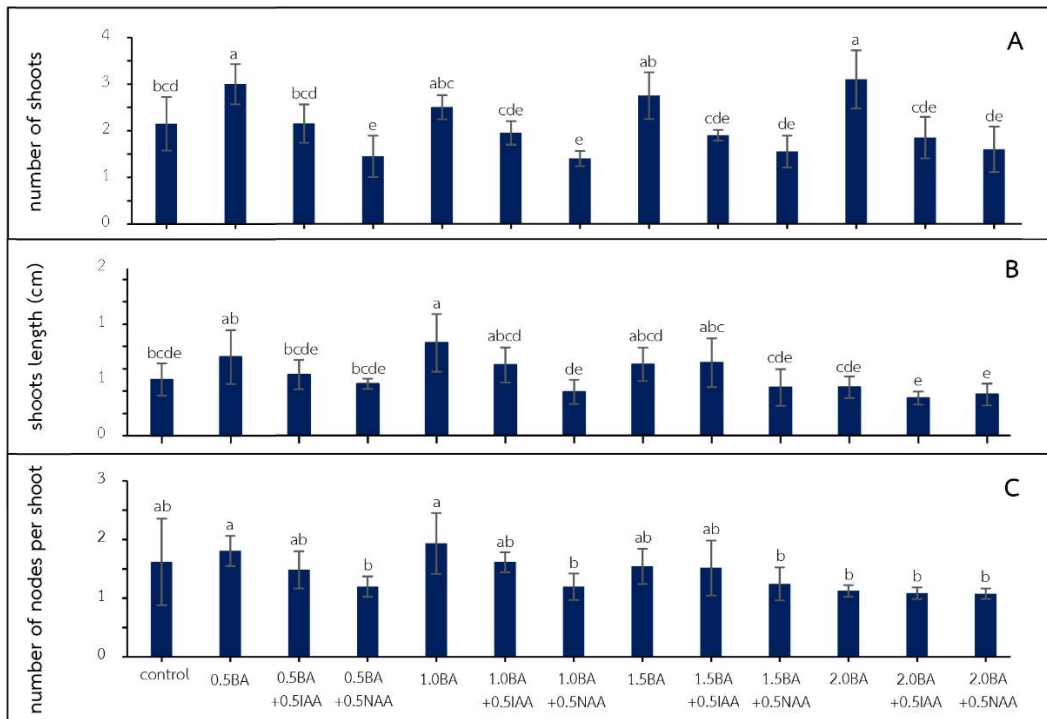
รูปที่ 1 ยอดที่พัฒนาเมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกะเพราแดงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 mg/L BA ร่วมกับ 0 และ 0.5 mg/L IAA หรือ NAA เป็นเวลา 4 สัปดาห์

สำหรับความยาวยอด พบว่ายอดที่พัฒนาบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 mg/L มีความยาวยอดสูงสุด (0.83 ± 0.26 cm) ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับความยาวของยอดที่พัฒนาบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 mg/L (0.71 ± 0.24 cm) 1.5 mg/L (0.64 ± 0.15 cm) รวมทั้ง BA ความเข้มข้น 1 mg/L และ 1.5 mg/L ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.5 mg/L (0.63 ± 0.16 และ 0.65 ± 0.22 cm ตามลำดับ) (รูปที่ 2B) นอกจากนี้ยอดที่พัฒนาบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 mg/L มีจำนวนข้อต่อยอดสูงสุดเท่ากับ 1.93 ± 0.52 ข้อ (รูปที่

2C) อย่างไรก็ตาม การเติม BA ความเข้มข้นสูง (2.0 mg/L) ร่วมหรือไม่ร่วมกับ IAA หรือ NAA ส่งผลให้ยอดมีความยาวและจำนวนข้อต่อยอดลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องจากการใช้ไซโทไคนินความเข้มข้นสูงจะยับยั้งการยืดยาวของลำต้น ทำให้ยอดมีการเจริญเติบโตลดลง [14] ซึ่งปัญหานี้ได้มีรายงานแล้วเช่นกันโดย Pattnaik และ Chand [15] พบว่าการเพาะเลี้ยงตาของกะเพรา และแมงลักบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้นสูงกว่า 1.0 mg/L และ 0.25 mg/L ตามลำดับ ส่งผลให้ยอดที่พัฒนามีความยาวลดลง จากการทดลองจะเห็นได้ว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความ

เข้มข้น 0.5 1.0 และ 1.5 mg/L เป็นสูตรที่เหมาะสมในการเพิ่มจำนวนยอด เนื่องจากจำนวนยอดที่พัฒนาความยาวยอด และจำนวนข้อต่อยอดไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 2A-2C) แต่เมื่อพิจารณาในเชิงการค้า

ควรใช้อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 mg/L เพื่อการขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนยอดของกะเพราแดง เนื่องจากใช้ BA ที่ความเข้มข้นน้อยที่สุดจึงประหยัดต้นทุนในการผลิต



รูปที่ 2 จำนวนยอดที่พัฒนา (A) ความยาวยอด (B) และจำนวนข้อต่อยอด (C) เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของกะเพราแดงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 mg/L ร่วมกับ IAA หรือ NAA ความเข้มข้น 0 และ 0.5 mg/L เป็นเวลา 4 สัปดาห์

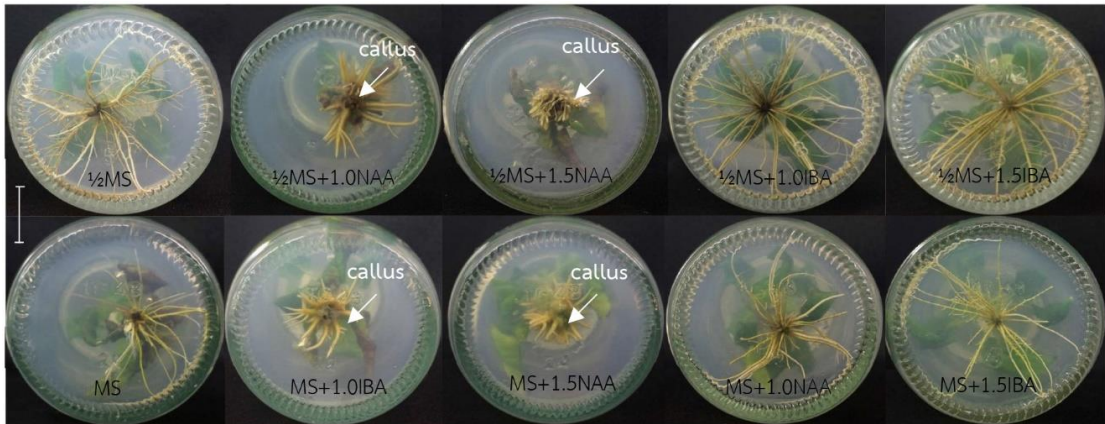
3.2 ผลของ NAA และ IBA ต่อการชักนำให้เกิดราก

การทดลองพบว่ายอดกะเพราแดงที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS และ MS ที่เติม NAA และ IBA ความเข้มข้นต่าง ๆ มีการพัฒนาของราก 100 % (รูปที่ 3) แต่จำนวนรากที่พัฒนาและความยาวรากมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.0 mg/L จำนวนรากที่พัฒนามากที่สุดเท่ากับ

21.83±4.90 ราก ในขณะที่ยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตมีจำนวนรากน้อยที่สุดเท่ากับ 9.5±3.64 ราก (รูปที่ 4A) ส่วนความยาวรากพบว่ารากที่พัฒนามบนอาหารสูตร ½ MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 1.5 mg/L มีความยาวสูงสุดเท่ากับ 2.47±0.15 cm ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับความยาวรากที่พัฒนามบนอาหารสูตร ½ MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (2.08±0.29 cm) และเติม IBA ความเข้มข้น 1.0 mg/L (2.46±0.48 cm) จากการ

ทดลองยังพบอีกว่ารากที่พัฒนาจากยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม NAA ทุกความเข้มข้น มีลักษณะอวบสั้นและเกิดแคลลัสบริเวณโคนยอด โดยรากที่พัฒนามน

อาหารสูตร ½ MS และ MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.5 mg/L มีความยาวรากน้อยสุด (0.55 ± 0.13 และ 0.55 ± 0.02 cm ตามลำดับ) (รูปที่ 4B)



รูปที่ 4 จำนวนรากที่พัฒนา (A) และความยาวราก (B) เมื่อเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารสูตร ½ MS และ MS ที่เติม NAA และ IBA ความเข้มข้น 0 1.0 และ 1.5 mg/L เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ตัวอักษร abc ที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % โดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ากะเพราแดงเป็นพืชที่สามารถเกิดรากโดยไม่ต้องเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตลงในอาหารเพาะเลี้ยง เช่นเดียวกับ *Gladiolus* และ *Narcissus* [16] อีกทั้งสามารถเกิดรากดีเมื่อลดความเข้มข้นของอาหารเพาะเลี้ยงลง แต่การเติม NAA และ IBA ลงในอาหารเพาะเลี้ยงช่วยให้เกิดการสร้างรากได้มากขึ้น เนื่องจาก NAA และ IBA มีสมบัติในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ และชักนำให้เกิดราก [9] ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Banu และ Bari [12] และ Sharma และคณะ [13] ที่พบว่าการเติม NAA ความเข้มข้น 0.1 mg/L และ IBA ความเข้มข้น 1.5 mg/L ส่งเสริมการเกิดรากของกะเพรา ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้พบว่า NAA ส่งผลให้การพัฒนาของแคลลัสร่วมกับการเกิดราก และรากที่พัฒนามีลักษณะอวบสั้น จึงไม่ควรใช้ NAA กับการชัก

นำให้เกิดรากของกะเพราแดง และไม่จำเป็นต้องเติม IBA ลงในอาหารเพาะเลี้ยง เนื่องจากอาหารเพาะเลี้ยงที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตก็สามารถเกิดชักนำให้ยอดเกิดการพัฒนามากขึ้น จากการทดลองจึงควรใช้อาหารสูตร ½ MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เนื่องจากประหยัดต้นทุนในการผลิตสามารถชักนำให้เกิดรากดี และรากมีลักษณะปกติ อย่างไรก็ตาม ควรศึกษาการรอดชีวิตของต้นกะเพราแดงหลังออกปลูกในสภาพธรรมชาติ เมื่อชักนำให้ยอดเกิดรากบนอาหารสูตรดังกล่าวต่อไป

4. สรุป

การขยายพันธุ์กะเพราแดงด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ควรใช้อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 mg/L ในการเพิ่มจำนวนยอด และอาหารสูตร ½

MS ในการชักนำให้เกิดรากของกะเพราแดง โดยไม่จำเป็นต้องเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินเพื่อเพิ่มจำนวนยอดและชักนำให้เกิดราก

5. รายการอ้างอิง

- [1] Wangcharoen, W. and Morasuk, W., 2007, Antioxidant capacity and phenolic content of some Thai culinary plants, Mj. Int. J. Sci. Tech. 1: 100-106.
- [2] Mukherjee, P.K., Maitib, K. and Houghton, P. J., 2006, Leads from Indian medicinal plants with hypoglycemic potential, J. Ethnopharm. 106: 1-28.
- [3] Ramesh, B. and Satakopan, N.V., 2010, Antioxidant activities of hydroalcoholic extract of *Ocimum sanctum* against cadmium induced toxicity in rats, Indian J. Clin. Biochem. 25: 307-310.
- [4] Kayastha, L.B., 2014, Queen of herbs tulsi (*Ocimum sanctum*) removes impurities from water and plays disinfectant role, J. Med. Plants Stud. 2: 1-8.
- [5] Gupta, S.K., Prakash, J. and Sriastava, S.V., 2002, Validation of claim of tulsi, *Ocimum sanctum* Linn. as a medicinal plant, Indian J. Exp. Biol. 40: 765-773.
- [6] Singh, N. K. and Sehgal, C. B. , 1999, Micropropagation of holy basil (*Ocimum sanctum* Linn.) from young inflorescence of mature plants, Plant Growth Regul. 29: 161-166.
- [7] Mishra T., 2015, Protocol establishment for multiplication and regeneration of ‘Holy Basil’ (*Ocimum sanctum* Linn): An important medicinal plant with high religious value in India, J. Med. Plants Stud. 3: 16-19.
- [8] รังสฤษดิ์ กาวิต๊ะ, 2540, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หลักการและเทคนิค, ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 219 น.
- [9] ศิวพงศ์ จำรัสพันธุ์, 2546, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏอุดรธานี, อุดรธานี, 308 น.
- [10] Jamal, M.A.H.M., Sharif, I.H., Shakil, Md.M., Rahman, A.N.M.R., Banu, N.A., Islam, Md.R. and Nazmuzzaman, Md. , 2016, *In vitro* regeneration of a common medicinal plant, *Ocimum sanctum* L. for mass propagation, Afr. J. Biotechnol. 15: 1269-1275.
- [11] Gopi, C., Sekhar, Y.N. and Ponmurugan, P., 2006. *In vitro* multiplication of *Ocimum gratissimum* L. through direct regeneration, Afr. J. Biotechnol. 5: 723-72.
- [12] Banu, L.A. and Bari, M.A., 2007, Protocol establishment for multiplication and regeneration of *Ocimum sanctum* L. an important medicinal plant with high religious value in Bangladesh, J. Plant Sci. 2: 530-537.
- [13] Sharma, N.K., Choudhary, R.C. and Kumar, M., 2014, An improved plant regeneration system of *Ocimum sanctum* L- An important Indian holy basil plant, J. Cell Tissue Res. 14: 4143-4148.
- [14] คำณณกาญจน์ภูมิ, 2542, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- พืช, สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ, 162 น.
- [15] Pattnaik, S. and Chand P.K., 1996, *In vitro* propagation of the medicinal herbs *Ocimum americanum* L. syn. *O. canum* Sims. (hoary basil) and *Ocimum sanctum* L. (holy basil), Plant Cell Rep. 15: 846-850.
- [16] Çiğ, A. and Başdoğan, G., 2015, *In vitro* propagation techniques for some geophyte ornamental plants with high economic value, Int. J. Second. Metab. 2: 27-49.