



ผลของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ในอาหารเพาะเลี้ยงต่อการเพิ่มจำนวนยอดและการเกิดรากของขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.)

Effect of Sodium Hypochlorite in Culture Medium on Shoot Proliferation and Root Induction of *Curcuma longa* L.

จินนภัทร จิรนาวินบูลย์, กรรณก น้าชูศรี, ภาณุมาศ ฤทธิไชย, เยาวพา จิระเกียรติกุล*

สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ปทุมธานี 12120

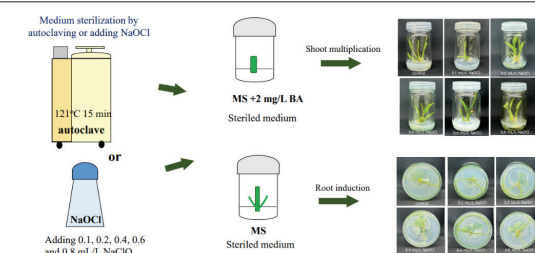
Jinnapat Jiranapawiboon, Kornkanok Chamchusri, Panumart Rithichai, Yaowapha Jirakiattikul*

Department of Agricultural Technology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University,

Pathum Thani 12120

Received 14 January 2025; Received in revised 19 May 2025; Accepted 26 May 2025

GRAPHICAL ABSTRACT



ABSTRACT

The propagation of *Curcuma longa* L., a medicinal herb known for its therapeutic properties, including alleviating stomach discomfort and expelling gas, can be effectively supported through plant tissue culture to ensure an adequate supply for cultivation. However, the cost of autoclaving for media sterilization is high. The addition of sodium hypochlorite (NaOCl) to the medium can achieve sterility and reduce cost, but it may also affect plant growth *in vitro*. Therefore, this study aimed to investigate the effect of various concentrations of NaOCl in the culture medium on shoot multiplication and root induction of *C. longa* under

aseptic conditions. The *in vitro* shoots were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 2 mg/L benzyladenine (BA) to induce shoot formation and on MS medium without plant growth regulators to induce root development. The culture medium was sterilized either by autoclaving (control) or by adding NaOCl at concentrations of 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, and 0.8 mL/L. The results showed that all treatments effectively sterilized the culture medium. There were no significant differences among treatments in shoot and root induction percentage, number of shoots and roots, or shoot and root length. The survival rate after transplantation was 100%. Thus, NaOCl at a concentration of 0.1 mL/L can be effectively used for media sterilization in the micropropagation of *C. longa*.

คำสำคัญ

การกำจัดเชื้อจุลินทรีย์;
โซเดียมไฮโปคลอไรท์;
ขมิ้นชัน;
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Keywords

Sterilization;
Sodium hypochlorite;
Curcuma longa L.;
Plant tissue culture

บทคัดย่อ

ขมิ้นชันเป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณแก้ท้องอืด ขับลม การขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทำให้มีต้นพันธุ์เพียงพอต่อความต้องการ แต่การทำอาหารเพาะเลี้ยงปลอดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำมีต้นทุนสูง การเติมโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaOCl) ในอาหารเพาะเลี้ยงทำให้อาหารปลอดเชื้อได้ มีต้นทุนต่ำกว่า แต่อาจส่งผลการเจริญเติบโตของพืช งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ NaOCl ความเข้มข้นต่าง ๆ ในอาหารเพาะเลี้ยงต่อการเพิ่มจำนวนยอดและการชักนำให้เกิดรากของขมิ้นชันในสภาพปลอดเชื้อ การเพิ่มจำนวนยอดใช้อาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 2 mg/L และการชักนำให้เกิดรากใช้อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต อาหารทำให้ปลอดเชื้อโดยนึ่งกำจัดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ หรือเติม NaOCl ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8 mL/L จากการทดลองพบว่า อาหารทุกสูตรมีผลปลอดเชื้อ 100% ยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารทุกสูตรมีอัตราการเกิดยอดและราก (%) จำนวนยอดและราก ความยาวยอดและรากไม่แตกต่างกันทางสถิติ ต้นขมิ้นชันรอดชีวิต 100% เมื่อนำต้นออกปลูก ดังนั้น การเติม NaOCl ความเข้มข้น 0.1 mL/L สามารถทำให้อาหารเพาะเลี้ยงปลอดเชื้อใช้ในการขยายพันธุ์ขมิ้นชันด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้

1. บทนำ

ขมิ้นชัน หรือ Tumeric (*Curcuma longa* L.) เป็นพืชสมุนไพรสูงประมาณ 60-90 cm ดอกเป็นช่อแทงออกจากเหง้าแทรกขึ้นมาระหว่างก้านใบ รูปทรงกระบอก กลีบดอกสีเหลืองอ่อน เหง้ามีลักษณะคล้ายรูปไข่ยาวประมาณ 2.5-7.0 cm กว้าง 2.5 cm เนื้อในของเหง้ามีสีเหลืองส้ม [1] เหง้ามีสรรพคุณได้แก่ช่วยบรรเทาอาการท้องเฟ้อ ขับลมในกระเพาะ ด้านอีกเสบด้านอนุมูลอิสระ และใช้เป็นวัตถุเติมในผลิตภัณฑ์อื่น ๆ เช่น ยา อาหาร และเครื่องสำอาง [2] ขมิ้นชันจัดเป็นพืชสมุนไพรเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพทางการค้าสูงสร้างรายได้อย่างต่อเนื่องและเป็นที่ต้องการทั้งในและต่างประเทศ อย่างไรก็ตาม ประเทศไทยยังต้องนำเข้าสินค้าขมิ้นชันเป็นมูลค่า 1.19 ล้านดอลลาร์สหรัฐ [3] แสดงให้เห็นว่า ประเทศไทยมีความต้องการใช้ขมิ้นชันเป็นจำนวนมาก ทั้งนี้การผลิตในประเทศไม่เพียงพอความต้องการเนื่องจากการขยายพันธุ์นิยมใช้ส่วนของเหง้าแต่เพิ่มจำนวนได้น้อยและใช้เวลานาน [4] นอกจากนี้ขมิ้นชันเป็นพืชที่ไม่ติดเมล็ด จึงไม่สามารถขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศได้ [1] อีกทั้งในการปลูกต้องใช้หัวพันธุ์จำนวนมาก มีระยะเวลาในการปลูกนานรวมถึงมีปัญหาของโรคและแมลงที่พบได้ตลอดฤดูกาลปลูก จากปัญหาดังกล่าวจึงได้มีการนำวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในการขยายพันธุ์ผลิตต้นพันธุ์ขมิ้นชัน เนื่องจากเทคนิคนี้สามารถผลิตต้นที่ปลอดโรค ผลิตต้นพันธุ์ได้จำนวนมากในระยะเวลาไม่นานและสามารถผลิตได้ตลอดทั้งปี

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขมิ้นชันเพื่อการขยายพันธุ์นั้นได้มีการศึกษาแล้วโดย Prathanturug et al. [5] Hashemy et al. [6] Koarapatchaikol [7] และ Marchant et al. [8] อย่างไรก็ตาม ในการขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนต้นด้วยวิธีการนี้ต้องใช้อาหารเพาะเลี้ยงที่ผ่านการนึ่งกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ซึ่งเป็นเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ที่มีราคาแพง รวมทั้งในการทำงานของหม้อนึ่งความดัน

ไอน้ำต้องใช้กระแสไฟฟ้าหรือแก๊สเพื่อให้ความร้อนกับน้ำภายในหม้อนึ่งเกิดเป็นแรงดันไอน้ำใช้ในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ ราคาของหม้อนึ่งความดันไอน้ำและการทำงานของเครื่องเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ต้นทุนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูง ดังนั้นเพื่อลดปัญหาดังกล่าวจึงได้มีการศึกษานำสารเคมีที่มีคุณสมบัติในการทำลายจุลินทรีย์ เช่น คลอรีนไดออกไซด์ (Chlorine dioxide; ClO_2) โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Sodium hypochlorite; NaOCl) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide; H_2O_2) เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยง เพื่อทำให้อาหารมีสภาพปลอดเชื้อโดยไม่ต้องใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ และเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชได้โดยไม่ต้องส่งผลการเจริญเติบโตของพืชหรือส่งผลเล็กน้อย ซึ่งได้มีรายงานแล้ว เช่น การเติม NaOCl ความเข้มข้น 2 mL/L และเบตาดีน ความเข้มข้น 2, 4 และ 6 mL/L ในการเพาะเลี้ยงยอดฟิลิเดนดรอนพันธุ์วรัญทรพ์ [9] การเติม ClO_2 ความเข้มข้น 12.6 μM สามารถทำให้อาหารปลอดเชื้อและยอดมันสำปะหลังสามารถเจริญเติบโตได้ [10] และการเติม NaOCl ความเข้มข้น 1-2 mL/L และ ClO_2 ความเข้มข้น 50-100 mg/L ในการชักนำให้เกิดยอดและรากของสับปะรดพันธุ์ภูแล [11] อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานการเติมสารเคมีที่มีคุณสมบัติในการทำลายจุลินทรีย์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขมิ้นชัน โดยในการศึกษาครั้งนี้เลือกใช้ NaOCl เนื่องจากเป็นสารเคมีที่หาซื้อได้ง่ายและราคาไม่แพง แต่คลอรีนไอออนเป็นพิษกับพืชได้เมื่อใช้ที่ความเข้มข้นค่อนข้างต่ำ และอาจส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตของพืช [12] ซึ่งความเข้มข้นของ NaOCl ที่ควรเติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อให้อยู่ในสภาพปลอดเชื้อและไม่เป็นอันตรายต่อพืชนั้นจะแตกต่างกันไปในพืชแต่ละชนิด ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ NaOCl ความเข้มข้นต่าง ๆ ที่เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงต่อการเพิ่มจำนวนยอดและการชักนำให้เกิดรากของขมิ้นชันในสภาพปลอดเชื้อ

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 พิษทดลองและสภาพเพาะเลี้ยง

ยอดขมิ้นชันที่พัฒนาในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog) ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 mg/L น้ำตาลซูโครส 30 g/L และวุ้น 8.5 g/L pH ของอาหารเท่ากับ 5.6-5.8 ปรับด้วย NaOH ความเข้มข้น 1 N ทำการย้ายเลี้ยงเพื่อเพิ่มจำนวนยอดให้เพียงพอที่จะทำการทดลอง โดยเพาะเลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ให้แสง 16 ชั่วโมง/วัน ความเข้มแสง 3,000 lux

2.2 การเพิ่มจำนวนยอด

ตัดยอดขมิ้นชันที่พัฒนาในสภาพปลอดเชื้อให้มีขนาดประมาณ 1-1.5 cm เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 mg/L ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส และวุ้น รวมทั้งปรับ pH ของอาหารเพาะเลี้ยงเช่นเดียวกับข้อ 2.1 โดยอาหารเพาะเลี้ยงทำให้ปลอดเชื้อด้วยวิธีการต่างกัน ดังนี้ นึ่งกำจัดเชื้อในอาหารเพาะเลี้ยงด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที (ทรีตเมนต์ควบคุม) หรือเติม NaOCl (Haite® 6% w/w) ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8 mL/L เติมน้ำ NaOCl ทุกความเข้มข้นลงในอาหารเพาะเลี้ยงหลังจากเติมผงวุ้นแล้วนำอาหารไปต้ม จากนั้นวางทิ้งไว้ให้อาหารเย็นลง และคนให้ NaOCl ผสมกับอาหารอย่างสม่ำเสมอ ตักอาหารลงขวดแก้วเพาะเลี้ยงและปิดฝาทันทีโดยไม่ต้องนำไปนึ่งกำจัดเชื้อ วางอาหารทุกทรีตเมนต์ไว้ในห้องเพาะเลี้ยงนาน 2 สัปดาห์ก่อนนำไปใช้ เพื่อตรวจสอบการปนเปื้อนของอาหารเมื่อเพาะเลี้ยงยอดลงในอาหารที่ทำให้ปลอดเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ แล้วให้นำขวดเพาะเลี้ยงไปวางในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิและแสงตามข้อ 2.1 เป็นเวลานาน 8 สัปดาห์โดยไม่มีการย้ายเลี้ยง (Subculture) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ มี 6 ทรีตเมนต์ แต่ละทรีตเมนต์มี 4 ซ้ำ แต่ละซ้ำมี 10 ขวด (1 ยอดต่อขวด) บันทึกผลการทดลอง: การเกิดยอด (%), จำนวนยอดโดยนับจำนวนยอดที่พัฒนาทุกยอด และความยาวของยอด (cm) โดยวัดทุกยอดที่พัฒนาจากโคนถึงปลายใบ

2.3 การชักนำให้เกิดราก

นำยอดที่พัฒนาในสภาพปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเติมน้ำตาลซูโครส และวุ้นเช่นเดียวกับข้อ 2.1 โดยอาหารเพาะเลี้ยงทำให้ปลอดเชื้อด้วยวิธีการที่แตกต่างกันตามข้อ 2.2 ตรวจสอบการปนเปื้อนของอาหารหลังเตรียมอาหารแล้ว 2 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ มี 6 ทรีตเมนต์ แต่ละทรีตเมนต์มี 4 ซ้ำ แต่ละซ้ำมี 8 ขวด (1 ยอดต่อขวด) เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์โดยไม่มีการย้ายเลี้ยง บันทึกผลการทดลอง: การเกิดราก (%), จำนวนรากโดยนับรากที่พัฒนายาวเกิน 0.5 cm และความยาวของราก (cm) วัดรากที่ยาวที่สุด

หลังจากชักนำให้เกิดรากครบ 4 สัปดาห์ นำต้นขมิ้นชันออกปลูก โดยคืบเอาต้นออกจากขวดอาหารแล้วล้างวุ้นที่ติดมาบริเวณโคนต้นและรากให้สะอาด จากนั้นนำต้นขมิ้นชันปลูกลงในกล่องที่บรรจุขุยมะพร้าวชั้น ฉีดพ่นน้ำให้ชุ่ม ปิดฝากล่องแล้วนำไปวางไว้ที่ร่มนาน 3 วัน เปิดฝากล่องออกพร้อมพ่นน้ำเพิ่มความชื้น บันทึกการรอดชีวิต (%) หลังออกปลูกแล้ว 10 วัน

2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลจากการทดลองเพิ่มจำนวนยอดและชักนำให้เกิดรากมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ตามแบบทดลองแบบ CRD เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's HSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ด้วยโปรแกรม SPSS

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

3.1 การเพิ่มจำนวนยอด

หลังเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงที่ผ่านการนึ่งกำจัดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (ทรีตเมนต์ควบคุม) และเติมน้ำ NaOCl ความเข้มข้นต่างๆ นาน 2 สัปดาห์พบว่า อาหารปลอดเชื้อ 100% จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดขมิ้นชันบนอาหารที่ทำให้ปลอดเชื้อด้วยวิธีการต่างๆ นาน 8 สัปดาห์ พบว่า ยอดที่เพาะเลี้ยงสามารถพัฒนายอดใหม่ได้บนอาหารที่ทำให้ปลอดเชื้อทุกวิธี และ

ไม่พบการปนเปื้อนระหว่างการทดลอง โดยเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด ($82.5 \pm 17.08\%$ ถึง $95.00 \pm 5.77\%$) จำนวนยอด (1.65 ± 0.37 ถึง 2.08 ± 0.29) และความยาวยอดที่พัฒนา (4.03 ± 0.93 ถึง 4.53 ± 0.37 cm) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างทรีตเมนต์ (Figure 1 and 2)

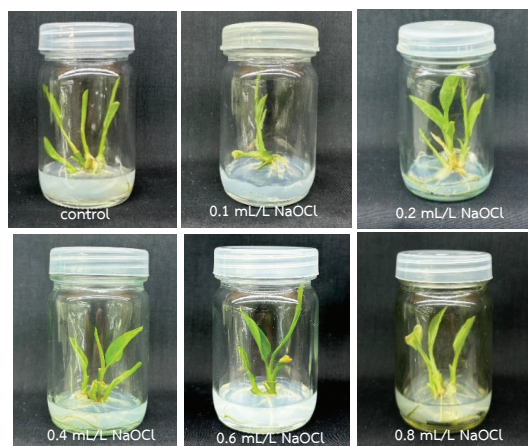


Figure 1 Regenerated shoots of *Curcuma longa* cultured on MS medium supplemented with 2 mg/L BA for 8 weeks. The medium was sterilized using autoclaving (control) or adding NaOCl at the concentrations of 0.1-0.8 mg/L.

3.2 การชักนำให้เกิดราก

อาหารเพาะเลี้ยงสำหรับชักนำให้เกิดรากปลอดเชื้อ 100% หลังจากเตรียมแล้ว 2 สัปดาห์ เมื่อเพาะเลี้ยงยอดขมิ้นชันบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อชักนำให้เกิดราก เป็นเวลา 4 สัปดาห์พบว่า ยอดสามารถพัฒนารากได้ 100% บนอาหารที่ทำให้ปลอดเชื้อทุก ทรีตเมนต์ (Figure 3) นอกจากนี้จำนวนราก (2.96 ± 0.14 ถึง 2.42 ± 0.14) และความ

ยาวราก (7.43 ± 0.24 ถึง 6.14 ± 0.13 cm) ของรากที่พัฒนาไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างทรีตเมนต์ (Figure 4) จากนั้นนำต้นขมิ้นชัน (ยอดที่มีราก) ออกปลูกเป็นเวลานาน 10 วัน พบว่า ต้นขมิ้นชันรอดชีวิตหลังออกปลูก 100% ในทุกทรีตเมนต์ สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาพธรรมชาติ

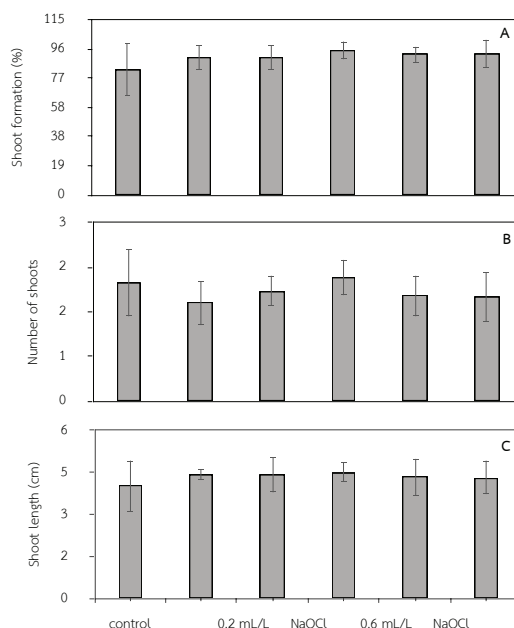


Figure 2 Shoot induction of *Curcuma longa* A) shoot formation (%) B) number of shoots C) shoot length after shoot explants were cultured on MS medium supplemented with 2 mg/L BA for 8 weeks. The medium was sterilized using autoclaving (control) or adding NaOCl at the concentrations of 0.1-0.8 mL/L.

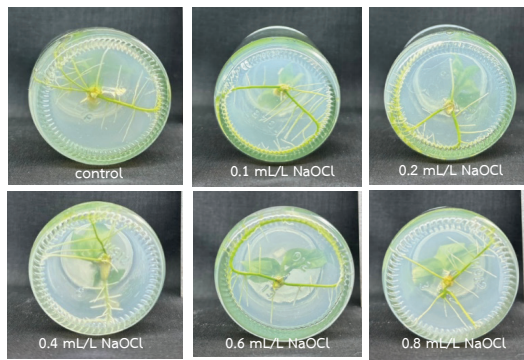


Figure 3 Root induction of *Curcuma longa* after culture on MS medium for 4 weeks. The medium was sterilized using autoclaving (control) or adding NaOCl at the concentrations of 0.1-0.8 mL/L.

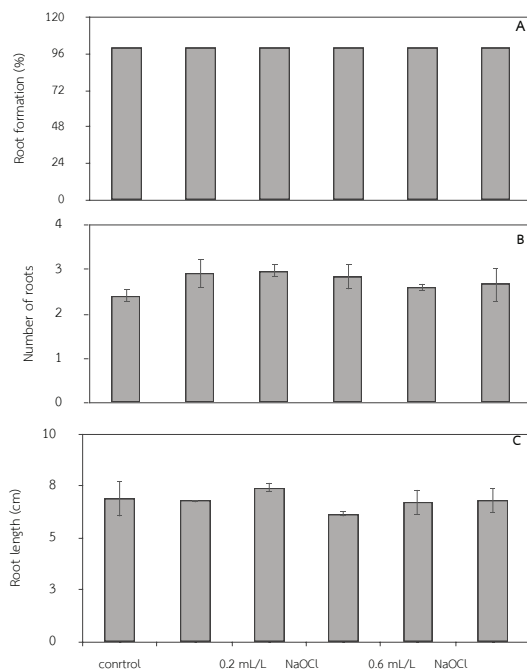


Figure 4 Root induction of *Curcuma longa* A) root formation (%), B) number of roots, C) root length (cm) after culture on MS medium for 4 weeks. The medium was sterilized using autoclaving (control) or adding 0.1-0.8 mL/L NaOCl.

จากการเติม NaOCl ความเข้มข้น 0.1-0.8 mL/L ลงในอาหารเพาะเลี้ยงเพื่อชักนำให้เกิดยอดและรากของขมิ้นชัน พบว่า สามารถทำให้อาหารปลอดเชื้อได้ 100% ตั้งแต่เริ่มทำการทดลองจนเสร็จสิ้นการทดลองเช่นเดียวกับการใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที ทั้งนี้เนื่องจาก NaOCl เป็นสารเคมีที่มีคุณสมบัติในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ [13] เมื่อละลายน้ำที่มีคุณสมบัติเป็นกลางจะเกิดการแตกตัวของโมเลกุลและปลดปล่อยออกซิเจน ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น Oxidizing agent และ Hypochlorous acid (HClO) เป็น active chlorine มีความสามารถทำลายโปรตีนที่เยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย [14] จึงทำให้การเติม NaOCl ลงในอาหารเพาะเลี้ยงปลอดเชื้อได้เมื่อเพาะเลี้ยงยอดขมิ้นชันบนอาหารที่เติม NaOCl ความเข้มข้นต่าง ๆ สามารถพัฒนายอดใหม่และเกิดรากได้ โดยการเกิดยอดและราก (%) จำนวนยอดและราก ความยาวยอดและรากไม่แตกต่างกันทางสถิติกับการเพาะเลี้ยงยอดขมิ้นชันบนอาหารที่ผ่านการนึ่งกำจัดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ แสดงให้เห็นว่า NaOCl ที่เติมในอาหารเพาะเลี้ยงไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของยอดขมิ้นชัน ทั้งนี้เนื่องจากความเข้มข้นของ NaOCl ที่ใช้ (0.1-0.8 mL/L) เป็นความเข้มข้นที่ค่อนข้างต่ำ นอกจากนี้ NaOCl เป็นสารเคมีที่สามารถสลายตัวได้เร็ว [15] จึงไม่เป็นอันตรายต่อการเจริญเติบโตของยอดขมิ้นชัน สอดคล้องกับรายงานของพืชที่มีรายงานการศึกษาเติม NaOCl ในอาหารเพาะเลี้ยง สามารถทำให้อาหารปลอดเชื้อและไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืชที่เพาะเลี้ยง เช่น สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต พบว่า การเติม NaOCl ความเข้มข้น 1-2 mL/L ในอาหารเพาะเลี้ยงแทนการนึ่งกำจัดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำไม่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดและราก [11] หรือในการชักนำให้เกิดรากของเยอบีราพันธุ์ Essandre ที่เติม NaOCl ในอาหารเพาะเลี้ยง พบว่า จำนวนใบและราก ความยาวยอดและรากไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างการกำจัดเชื้ออาหารด้วยใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ และกำจัดเชื้อด้วย

NaOCl ความเข้มข้น 0.0005-0.003% (คำนวณจากความเข้มข้นของ Active chlorine) [15] อย่างไรก็ตามในพืชบางชนิดมีรายงานการใช้สารฟอกกำจัดเชื้อเต็มลงในอาหารเพาะเลี้ยง นอกจากจะไม่เป็นอันตรายกับพืชแล้วยังส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่เพาะเลี้ยงด้วยดังรายงานของ Wamaedeesa et al. [9] เติม Haiter® และ Betadine® ลงในอาหารเพาะเลี้ยงฟิโลเดนดรอนพันธุ์รวยทรัพย์ พบการรอดชีวิตของพืช 100% โดยอาหารที่เติม NaOCl ความเข้มข้น 2 mL/L ทำให้มีการเจริญเติบโตทางใบดีที่สุดทั้งจำนวนและความกว้างใบหรือในไม้น้ำพุเทพาแลนด์ร่า พบว่า จำนวนยอดที่พัฒนา (6.20 ± 0.44 ถึง 6.80 ± 0.70 ยอด) เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม NaOCl ความเข้มข้น 0.1-0.5% (v/v) มากกว่าจำนวนยอดที่พัฒนา (4.20 ± 0.44 ยอด) บนอาหารที่ผ่านการนึ่งกำจัดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำอย่างมีนัยสำคัญ [16] ทั้งนี้เนื่องจาก NaOCl หรือสารเคมีที่ใช้กำจัดเชื้อจุลินทรีย์ไม่มีผลต่อการสลายตัวของวิตามินบีที่อาจเกิดขึ้นได้เมื่อใช้ความร้อนจากการนึ่งกำจัดเชื้อ [15] รวมถึง pH ของอาหารไม่เปลี่ยนแปลงมาก ทำให้พืชสามารถใช้ประโยชน์จากธาตุอาหารที่มีในอาหารเพาะเลี้ยงได้เป็นอย่างดี [17] จากผลการทดลองนี้ จึงควรใช้ NaOCl ความเข้มข้น 0.1 mL/L ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ต่ำแทนการนึ่งกำจัดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ โดยวิธีนี้เป็นวิธีที่ทำให้ประหยัดต้นทุนในการผลิตพืชด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และไม่ส่งผลกระทบต่อเจริญเติบโตของขมิ้นชันที่เพาะเลี้ยงด้วย

4. สรุปผลการทดลอง

การเติม NaOCl ความเข้มข้น 0.1-0.8 mL/L แทนการนึ่งกำจัดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ทำให้อาหารปลอดเชื้อ 100% ยอดขมิ้นชันสามารถพัฒนายอดใหม่รวมถึงสามารถเกิดรากได้โดยมีการเกิดยอดและราก (%) จำนวนยอดและราก ความยาวยอดและราก ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่นึ่ง

กำจัดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ยอดขมิ้นชันรอดชีวิต 100% หลังออกปลูกในสภาพธรรมชาติและเจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติได้ ดังนั้น การทำให้อาหารปลอดเชื้อด้วย NaOCl ความเข้มข้น 0.1 mL/L จึงสามารถใช้ทดแทนการนึ่งกำจัดเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขมิ้นชันได้

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ที่สนับสนุนอุปกรณ์และเครื่องมือในการทำงานวิจัยครั้งนี้

6. References

- [1] Dada Khalandar, S., Adithya, T. N., Basha, S. J., Koshma, M., Subbareddy, U. V. and Reddy, V. J. S., 2018, A current review on *Curcuma longa* Linn, Plant. Int. J. Pharma. Chem. Biol. Sci. 8: 68-73.
- [2] Jain, S., Shrivastava, S., Nayak, S. and Sumbhate, S., 2007, Recent trends in *Curcuma longa* Linn, Pharmacog. Rev. 1: 119-128.
- [3] Trade Policy and Strategy Office, 2022, Trade Opportunities for Thai Herbal Products, Case Study: Turmeric, Ministry of Commerce, Available Source: https://uploads.tpso.go.th/2022-09-11_raayngaankhminchbabayaaw_final.pdf, Dec 18, 2024. (in Thai)
- [4] Dolase, P. and Chaudhari, V., 2024, Review on cultivation practices of Haridra (*Curcuma longa* Linn.), Int. J. Ayurveda Pharma. Res. 12: 56-61.

- [5] Prathanturug, S., Soonthornchareonnon N., Chuakul, W., Phaidee Y. and Saralamp, P., 2005, Rapid micropropagation of *Curcuma longa* using bud explants pre-cultured in thidiazuron-supplemented liquid medium, *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 80: 347-351.
- [6] Hashemy, T., Maki, H., Yamada, Y., Kaneko, T. S. and Syono, K., 2009, Effects of light and cytokinin on *in vitro* micropropagation and microrhizome production in turmeric (*Curcuma longa* L.), *Plant Biotechnology* 26: 237-242.
- [7] Koarapatchaikol, K., 2015, Micropropagation of Turmeric (*Curcuma longa* L.) via shoot tip culture from juvenile rhizome, *SWU Sci. J.* 3: 175-188. (in Thai)
- [8] Marchant, M. J., Molina, P., Montecinos, M., Guzmán, L., Balada, C., Fassio, C. and Castro, M., 2021, *In vitro* propagation of easter island *Curcuma longa* from rhizome explants using temporary immersion system, *Agronomy* 11: 2121.
- [9] Wamaedeesa, R., Ali, B., Chedao, N. and Kanjanawattanawong, S., 2021, Chemical sterilization in MS culture medium for *in vitro* culture of *Philodendron* sp. “Ruaysap”, *PNUJR.* 13: 377-387. (in Thai)
- [10] Duan, Y., Zhang, H., Sun, M., Zhao, F., Xue, T. and Xue, J., 2019, Use of chlorine dioxide to sterilize medium for tissue culture of potato, *Sci. Rep.* 9: 10232.
- [11] Phuangphachong, S., Thamanantada, W., Rithichai, P. and Jirakiattikul, Y., 2024, Effects of chlorine dioxide and sodium hypochlorite in culture medium on micropropagation of pineapple (*Ananas comosus*) cv. Phulae, *Thai Sci. Technol. J.* 32: 67-76. (in Thai)
- [12] Carrillo, A., Puente, M. E. and Bashan, Y., 1996, Application of diluted chlorine dioxide to radish and lettuce nurseries insignificantly reduced plant development, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 35: 57-66.
- [13] Russell, A. D., 2003, Similarities and differences in the responses of microorganisms to biocides, *J. Antimicrob. Chemother.* 52: 750-763.
- [14] Matsumoto, K., Coelho, M. C. F., Monte, D. C. and Teixeira, J. B., 2009, Sterilization of non-autoclavable vessels and culture media by sodium hypochlorite for *in vitro* culture, *Acta Hortic.* 839: 329-336.
- [15] Pais, A., Sliva, A., Souza, C., Teixeira, S., Ribeiro, J., Peixoto, A. and Paz, D., 2016, Sodium hypochlorite sterilization of culture medium in micropropagation of *Gerbera hybrida* cv. Essandre, *Academic. Rep.* 15: 36.
- [16] Laksana, C., Pengsa, Y. and Sophipan, O., 2023, Study of the effectiveness of preservatives and sodium hypochlorite for eradication of microorganism in plant tissue culture medium for *Bucephalandra* aquatic plant, *RMUTSB Acad. J.* 11: 57-66. (in Thai)

- [17] Cardoso, J. C. and Imthurn, A. C. P., 2018, Easy and efficient chemical sterilization of the culture medium for *in vitro* growth of gerbera using chlorine dioxide (ClO_2), Ornam. Hortic. 24: 218-224.