

การเจริญเติบโตของต้นเจตมูลเพลิงแดง (*Plumbago indica* L.)

หลังออกปลูกเมื่อขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

และปริมาณสาร plumbagin

Growth of *In Vitro* Grown Plantlets of *Plumbago indica* L. after Transplantation and Plumbagin Contents

เยาวพา จิระเกียรติกุล*, ปพิชญา ขวานทอง และภาณุมาศ ฤทธิไชย

สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

ศรีโสภา เรืองหนู และอรุณพร อิฐรัตน์

สถานการแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Yaowapha Jirakiattikul*, Papichaya Kwanthong and Panumart Rithichai

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

Rangsit Centre, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120

Srisopa Ruangnoo and Arunporn Itharat

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

Rangsit Centre, Klong Nueng, Klong Luang, Pathumthani 12120

บทคัดย่อ

เจตมูลเพลิงแดง (*Plumbago indica* L.) เป็นพืชสมุนไพรที่มีการสะสมสาร plumbagin มากในส่วนจากราก มีรายงานการเพิ่มจำนวนต้นเจตมูลเพลิงแดงในสภาพปลอดเชื้อแล้ว แต่ยังไม่มีการศึกษาการเจริญเติบโตของต้นที่ขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และปริมาณสารสำคัญที่รากเมื่อออกปลูกในสภาพธรรมชาติ ดังนั้นการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของต้นเจตมูลเพลิงแดงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และปริมาณสาร plumbagin ในรากเจตมูลเพลิงแดงหลังการย้ายปลูกในสภาพธรรมชาติทุก ๆ 3 เดือน เป็นระยะเวลา 1 ปี ผลการทดลองพบว่าจำนวนกิ่งบริเวณโคนต้นและความกว้างทรงพุ่มมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญตามอายุที่เพิ่มขึ้น หลังการย้ายปลูก น้ำหนักสดและแห้งของต้น และรากเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดการเพาะปลูก รากของต้นเจตมูลเพลิงแดงที่อายุ 3 และ 6 เดือนหลังการย้ายปลูก (months after planting, MAP) มีปริมาณสาร plumbagin ต่ำ เท่ากับ 10.69 ± 5.08 และ 7.95 ± 1.11 mg/g root DW ตามลำดับ เมื่อต้นอายุ 9 MAP มีปริมาณสาร

*ผู้รับผิดชอบบทความ : yjirakia@tu.ac.th

plumbagin สูงสุด เท่ากับ 15.11 ± 4.42 mg/g root DW แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับปริมาณสารของต้นอายุ 12 MAP (13.11 ± 4.76 mg/g root DW)

คำสำคัญ : เจตมูลเพลิงแดง; plumbagin; การเจริญเติบโต; การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช; ราก

Abstract

Plumbago indica L. is a medicinal plant that accumulates a large amount of plumbagin in its roots. It has been reported that this plant species can be propagated by plant tissue culture technique. However, there was no study on growth of *in vitro* grown plantlets and secondary metabolite accumulation in its roots after transplantation. Therefore, the objectives of this experiment were to examine plant growth after planting with *in vitro* plantlets and to determine root plumbagin contents at 3 month intervals for a year. The results showed that the number of branches and plant width significantly increased with the growing period. Fresh and dry weight of shoots and roots had been continuously enhanced throughout the experimental period. Roots at 3 and 6 months after planting (MAP) contained low plumbagin contents of 10.69 ± 5.08 and 7.95 ± 1.11 mg/root DW, respectively. The highest concentration of plumbagin (15.11 ± 4.42 mg/g root DW) occurred at 9 MAP, however, there was no significant difference with that at 12 MAP (13.11 ± 4.76 mg/g root DW).

Keywords: *Plumbago indica* L.; plumbagin; growth; plant tissue culture; root

1. บทนำ

เจตมูลเพลิงแดง (*Plumbago indica* L.) เป็นพืชสมุนไพรขนาดเล็ก อายุหลายปี มีสาร plumbagin สะสมมากในส่วนของราก [1] การแพทย์แผนไทยนิยมนำมาทำเป็นยาบำรุงธาตุ บำรุงโลหิต [2] ขับลม ขับโลหิตระดู และทำให้แท้งลูกได้ [3] สาร plumbagin มีฤทธิ์ต้านมาลาเรีย [4] และยับยั้งการเกิดเซลล์มะเร็งหลายชนิด [5] จากสรรพคุณข้างต้นทำให้มีความต้องการใช้ประโยชน์จากพืชดังกล่าวเพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่การขยายพันธุ์เจตมูลเพลิงแดงโดยทั่วไปนิยมใช้การปักชำกิ่งและราก โดย Menon และคณะ [6] รายงานถึงการให้ผลผลิตรากของเจตมูลเพลิงแดงในช่วงอายุ 6-18 เดือน ที่ได้จากการปักชำกิ่ง พบว่ารากที่อายุ

ดังกล่าวมีความยาวราก 29.07-57.07 cm น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของราก 21.63-88.63 และ 5.27-22.73 g ตามลำดับ ส่วน นพพร และสุรัสวดี [7] รายงานว่าเมื่อปลูกต้นเจตมูลเพลิงแดงที่ได้จากการปักชำรากเป็นเวลา 37 เดือน ภายใต้การพรางแสง การใส่ปุ๋ยส่งผลให้น้ำหนักแห้งราก (370.60 g/plot) สูงกว่าต้นที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ย ส่วนต้นที่ปลูกกลางแจ้งและไม่ใส่ปุ๋ย มีน้ำหนักแห้งราก (308.06 g/plot) สูงกว่าต้นที่ใส่ปุ๋ย (211.40 g/plot) จากการทดลองนี้ยังพบว่าต้นอายุ 30 เดือน เมื่อปลูกกลางแจ้งและใส่ปุ๋ย รากมีการสะสมสาร plumbagin สูงสุด เท่ากับ 8.58 mg/g รองลงมาเป็น 6.83 mg/g เมื่อต้นอายุ 30 เดือน ปลูกภายใต้การพรางแสงและใส่ปุ๋ย นอกจากนี้ยังได้เปรียบเทียบ

ปริมาณสาร plumbagin ของต้นที่ขยายพันธุ์ด้วยการปักชำกิ่งและปักชำราก พบว่ารากของต้นที่ได้จากการปักชำกิ่งและรากเมื่อปลูกกลางแจ้ง มีการสะสมสาร plumbagin (9.30 และ 10.02 mg/g) สูงกว่าต้นที่ได้จากการปักชำกิ่งและรากเมื่อปลูกภายใต้การพร่างแสง (4.91 และ 2.99 mg/g) โดยปริมาณสาร plumbagin ลดลงทั้ง 2 การทดลอง เมื่ออายุของต้นมากขึ้นที่อายุ 34 และ 37 เดือน อย่างไรก็ตาม การขยายพันธุ์ด้วยวิธีการดังกล่าวสามารถผลิตต้นพืชได้จำนวนน้อย ใช้ระยะเวลานาน และต้นพืชที่ผลิตได้มีการเจริญเติบโตที่ไม่สม่ำเสมอ [8] นอกจากนี้พืชชนิดนี้มีการสะสมสารทุติยภูมิในรากสูงเมื่อต้นพืชมีอายุ 2-3 ปี เป็นสาเหตุให้นิยมเก็บรากเจตมูลเพลิงแดงจากป่ามาใช้ประโยชน์ในทางการค้า เนื่องจากต้นพืชที่ขยายพันธุ์ได้จากการปักชำเจริญเติบโตไม่ทันต่อการนำมาใช้ ซึ่งการเก็บรากเจตมูลเพลิงแดงจากป่าอาจทำให้ปริมาณและคุณภาพของสารทุติยภูมิที่ผลิตได้ไม่มีความสม่ำเสมอ [7]

การขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนต้นด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถผลิตต้นพืชได้จำนวนมากในระยะเวลานาน [9] ซึ่งการขยายพันธุ์ด้วยวิธีนี้จะทำให้ผลิตต้นเจตมูลเพลิงแดงได้มากเพียงพอกับความต้องการ มีรายงานการเพิ่มจำนวนต้นเจตมูลเพลิงแดงในสภาพปลอดเชื้อแล้ว โดย Kumar และ Bhavanandan [10] และ ยาวพา และเบญจา [11] อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีการศึกษาถึงการเจริญเติบโตของต้นที่ขยายพันธุ์ด้วยวิธีนี้ควบคู่ไปกับปริมาณสาร plumbagin ของรากเจตมูลเพลิงแดง ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของต้นเจตมูลเพลิงแดงทุก ๆ 3 เดือน รวมถึงปริมาณของสาร plumbagin ในรากเจตมูลเพลิงแดงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังการย้ายปลูกในสภาพธรรมชาติเป็นเวลา 1 ปี

2. อุปกรณ์และวิธีการ

นำยอดเจตมูลเพลิงแดงที่พัฒนาในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 mg/l มาตัดส่วนของยอดให้มีความยาว 1.5-2.0 cm และเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อชักนำให้เกิดราก โดยเพาะเลี้ยงที่ห้องควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 2 เดือน จากนั้นนำต้นเจตมูลเพลิงแดงที่เกิดรากมาปรับสภาพก่อนออกปลูกในสภาพธรรมชาติ (acclimatization) โดยย้ายปลูกลงในกล่องพลาสติกที่บรรจุขุยมะพร้าวชุ่มน้ำ ปิดฝากล่องไว้เป็นเวลา 3 วัน เปิดฝาเล็กน้อยเป็นเวลา 4 วัน และเปิดฝาทิ้งทั้งหมดเป็นเวลา 7 วัน นำต้นเจตมูลเพลิงแดงที่ผ่านการปรับตัวแล้ว ลงปลูกในถุงพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 นิ้ว ถุงละ 1 ต้น วัสดุปลูกที่ใช้ คือ ดิน ใบก้ามปู ถ่านกลบ ปุ๋ยคอก และทรายหยาบ ผสมกันอย่างละ 1 ส่วน ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 16-16-16 อัตรา 0.5 g/ต้น วางต้นพืชไว้ในโรงเรือนพร่างแสง 50 % ในระหว่างการเพาะปลูก ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 16-16-16 อัตรา 5 g/ต้น ทุกเดือน เดิมวัสดุปลูก กำจัดวัชพืช ตัดแต่งทรงพุ่มเพื่อลดการระบาดของโรคและแมลง ฉีดพ่นเทอราคลอร์และไซเปอร์เมทริน เมื่อมีการระบาดของโรครากเน่าและการเข้าทำลายของแมลง การออกปลูกต้นเจตมูลเพลิงแดงในสภาพธรรมชาตินั้น ได้ดำเนินการ 2 ครั้ง โดยครั้งที่ 1 ออกปลูกในเดือนกันยายน พ.ศ. 2557 แล้วเก็บเกี่ยวเมื่อต้นอายุ 6, 9 และ 12 เดือนหลังการย้ายปลูก (months after planting, MAP) ครั้งที่ 2 ออกปลูกในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2558 แล้วเก็บเกี่ยวเมื่อต้นอายุ 3 MAP

วางแผนการทดลองแบบ CRD (completely randomized design) แต่ละอายุมี 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ต้น บันทึกผลการทดลองทุก ๆ 3 เดือน โดยนับจำนวนกิ่งบริเวณโคนต้น วัดความกว้างทรงพุ่ม ความสูงของลำต้น และความยาวของราก บันทึกน้ำหนักสดและ

น้ำหนักแห้งของลำต้นเหนือดิน และราก จากนั้นนำตัวอย่างแห้งของรากมาสกัดตามวิธีการของ Sukkarn และ Itharat [12] โดยแช่ตัวอย่างรากแห้งที่บดละเอียดแล้วลงใน ethanol อัตราส่วน 1 : 3 โดยปริมาตร เป็นเวลา 72 ชั่วโมง กรองสารละลายผ่านกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 นำตัวอย่างแห้งส่วนที่เหลือมาสกัดด้วย ethanol ตามวิธีข้างต้นอีก 2 ครั้ง นำสารละลายใส่ทั้งหมดไประเหยให้แห้งใน hot air oven ที่อุณหภูมิ 50 °C หลังจากนั้นเก็บรักษาสารสกัดเจตมูลเพลิงแดงที่อุณหภูมิ -20 °C จนกว่าจะนำตัวอย่างมาวิเคราะห์หาปริมาณสาร plumbagin ในการวิเคราะห์หาปริมาณสาร plumbagin ของรากเจตมูลเพลิงแดงที่อายุ 3-12 MAP ด้วยวิธี HPLC ดัดแปลงจากวิธีการของ Itharat และ Sakpakdejaroen [13] โดยละลายสารสกัดจากรากเจตมูลเพลิงแดง 10 mg ใน absolute ethanol (99.9 %) ปริมาตร 1 ml จากนั้นนำไป sonicate เป็นเวลา 1 นาที ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 100 µl ลงใน absolute ethanol ปริมาตร 900 µl แล้วกรองสารละลายผ่านแผ่นกรอง nylon ขนาด 0.22 micron ใส่ลงใน insert vial แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณสาร plumbagin ด้วยเครื่อง HPLC รุ่น Nexera LC-30AD ของบริษัท Shimadzu ส่วนสารมาตรฐาน เตรียมโดยละลายสารมาตรฐาน plumbagin 1 mg ใน absolute ethanol (99.9 %) ปริมาตร 1 ml จากนั้น ปิเปตสารละลายมาตรฐานให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 200, 100, 50, 25 และ 12.5 µg/ml แล้วกรองสารละลายผ่านแผ่นกรอง nylon ขนาด 0.22 micron ใส่ลงใน insert vial แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณสาร เพื่อสร้างกราฟมาตรฐานของสาร plumbagin คอลัมน์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ Nova-Pak C18 (3.9×150 mm) มีสารละลายตัวพา (mobile phase) เป็นอะซิโตนไตรล์ (acetonitrile) และน้ำ โดยวิเคราะห์แบบ gradient ซึ่งมีอัตราส่วนของอะซิ-

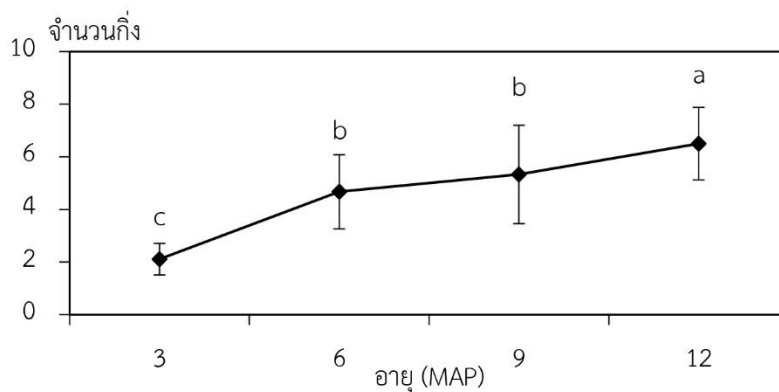
โตนไตรล์ต่อน้ำที่ระยะเวลาต่าง ๆ ตามลำดับ ดังนี้ นาที่ที่ 0.00 60:40 นาที่ที่ 30.00 50:50 นาที่ที่ 35.00 0:100 นาที่ที่ 40.00 60:40 และนาที่ที่ 45.00 60:40 มีอัตราการไหลของสารละลายตัวพา 1 ml/นาที่ ตรวจวิเคราะห์ด้วยแสง UV ที่ความยาวคลื่น 256 nm และมีปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ 10 µl คำนวณหาปริมาณสาร plumbagin (x) จากสมการ linear regression ของสาร plumbagin มาตรฐาน ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้เท่ากับ $y = 18840x - 186926$ ($R^2 = 0.9995$) และค่าพื้นที่ใต้กราฟ (y) ที่ได้จากการวิเคราะห์ที่คำนวณด้วยโปรแกรม lab solution โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ตามวิธีการ CRD เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 % โดยโปรแกรม SAS

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

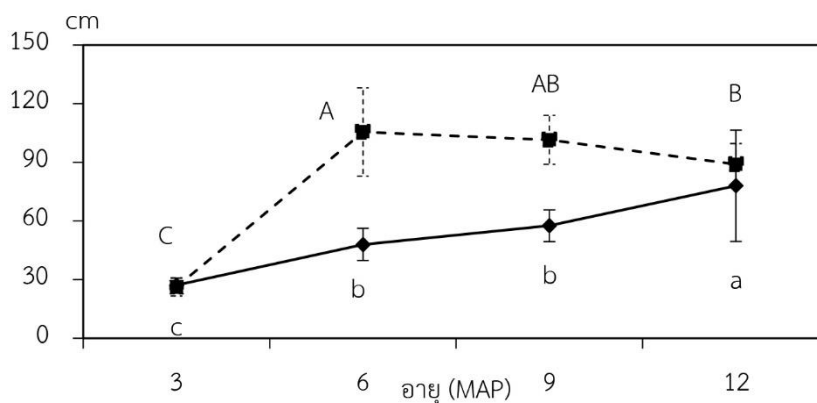
การย้ายต้นเจตมูลเพลิงแดงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกปลูกในสภาพธรรมชาติ พบว่าจำนวนกิ่งบริเวณโคนต้นและความกว้างทรงพุ่มมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญตามอายุที่เพิ่มขึ้นหลังการย้ายปลูก โดยต้นที่อายุ 3 MAP มีจำนวนกิ่งบริเวณโคนต้นต่ำสุด เท่ากับ 2.11 ± 0.60 กิ่ง จากนั้นจำนวนกิ่งบริเวณโคนต้นเพิ่มขึ้น และสูงสุดที่อายุ 12 MAP เท่ากับ 6.50 ± 1.38 กิ่ง (รูปที่ 1) เช่นเดียวกับความกว้างทรงพุ่มมีค่าต่ำสุดที่อายุ 3 MAP คือ 27.17 ± 3.59 cm และสูงสุดที่อายุ 12 MAP คือ 78.00 ± 28.46 cm (รูปที่ 2) ส่วนความสูงต้นพบว่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 3-6 MAP โดยมีความสูงเท่ากับ 26.22 ± 4.60 cm เมื่ออายุ 3 MAP และ 105.50 ± 22.58 cm เมื่ออายุ 6 MAP อย่างไรก็ตาม ความสูงของต้นเจตมูลเพลิงแดงที่อายุ 12 MAP พบว่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมี

ความสูง 89.00 ± 10.60 cm แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับความสูงของต้นที่อายุ 9 MAP (รูปที่ 2) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในช่วงอายุ 9 MAP ต้นเจตมูลเพลิงแดงที่ปลูกเริ่มมีอาการของโรครากเน่าและส่งผลรุนแรงขึ้นในช่วงอายุ 12 MAP ถึงแม้ต้นที่นำมาศึกษาจะยังไม่แสดงอาการของโรค แต่คงได้รับผลกระทบจากโรคดังกล่าว โดยโรครากเน่ามีผลโดยตรงต่อระบบรากของพืช ทำให้รากฝอยแห้งถดถอยลง ไม่แตกรากอ่อน ส่งผลให้ต้นพืชชะงักการเจริญเติบโต ลำต้นทรุดโทรม ใบเหี่ยวร่วง และยืนต้นตาย [14] อย่างไรก็ตาม น้ำหนักสดและแห้งของต้นเจตมูลเพลิงแดงเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง และแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญตลอดการเพาะปลูก โดยน้ำหนักสดต้นเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง

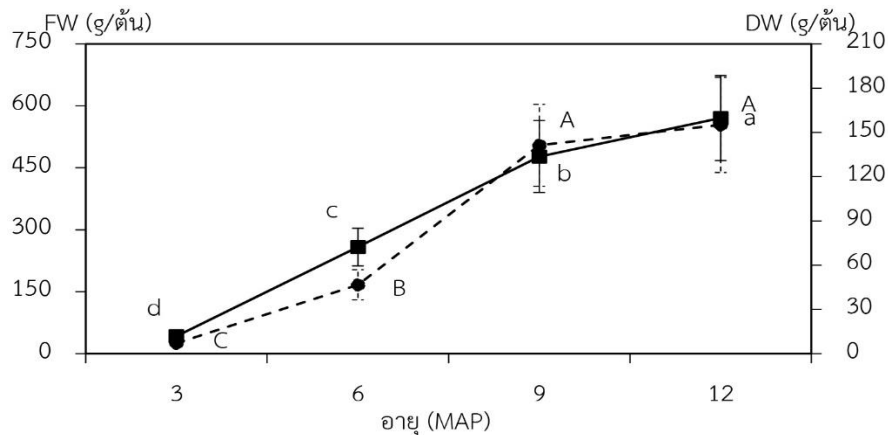
3-9 MAP (42.39 ± 4.88 ถึง 477.29 ± 87.07 g/ต้น) และเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยเมื่อต้นมีอายุ 12 MAP โดยมีน้ำหนักสดต้น 570.56 ± 102.84 g/ต้น เช่นเดียวกับน้ำหนักแห้งต้นที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 3-9 MAP (7.10 ± 0.88 ถึง 141.25 ± 27.78 g/ต้น) และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในเดือนที่ 12 (รูปที่ 3) (155.10 ± 32.27 g/ต้น) ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ ทิพย์สุตาและคณะ [15] ที่กล่าวไว้ว่า ในช่วงเวลา 6 เดือนแรกหลังการย้ายปลูกต้นเจตมูลเพลิงแดงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พืชมีการเจริญเติบโตทางลำต้นเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ต่อมาในช่วง 6-9 เดือน พืชมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และมีการเจริญเติบโตค่อนข้างคงที่เมื่อเข้าสู่ช่วงที่ 9-12 เดือน



รูปที่ 1 จำนวนกิ่งบริเวณโคนต้นของเจตมูลเพลิงแดงที่อายุ 3-12 MAP



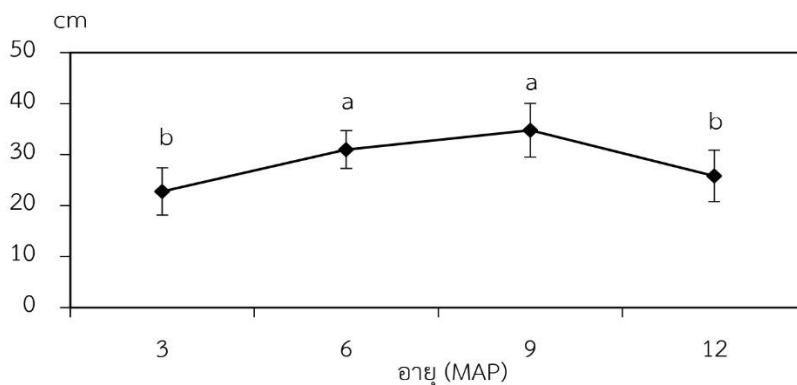
รูปที่ 2 ความกว้างทรงพุ่ม (—◆—) และความสูงต้น (-■-) ของต้นเจตมูลเพลิงแดงที่อายุ 3-12 MAP



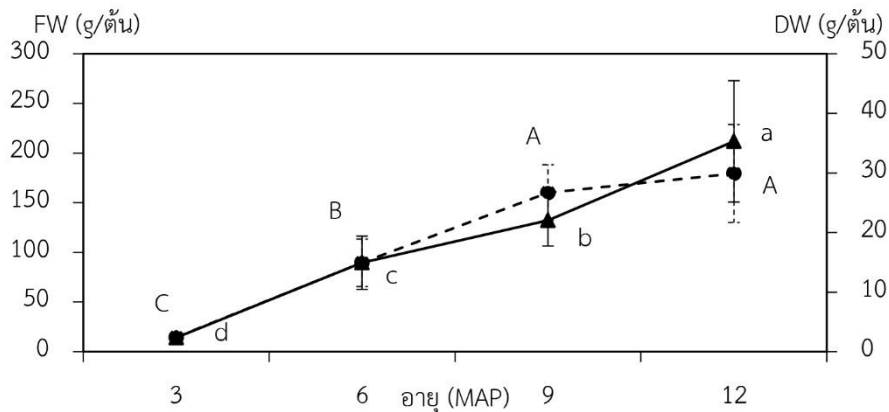
รูปที่ 3 น้ำหนักสดต้น (—■—) และน้ำหนักแห้งต้น (-●-) ของต้นเจตมูลเพลิงแดงที่อายุ 3-12 MAP

ส่วนการเจริญเติบโตในส่วนของราก พบว่าต้นเจตมูลเพลิงแดงที่อายุ 9 MAP มีความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด คือ 34.78 ± 5.26 cm ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับต้นที่อายุ 6 MAP ในขณะที่ต้นที่มีอายุ 12 MAP มีความยาวรากเฉลี่ยเท่ากับ 25.83 ± 5.05 cm ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติกับความยาวรากของต้นที่อายุ 3 MAP (รูปที่ 4) ซึ่งอาจมีผลมาจากในช่วงที่พืชมีอายุ 12 MAP มีการแพร่ระบาดของโรครากเน่าตามที่ได้กล่าวไว้แล้วข้างต้น ส่งผลให้ระบบรากพืชได้รับความเสียหายบ้าง แต่น้ำหนักสด และแห้งรากยังคงเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดการเพาะปลูก (รูปที่ 5) โดยมีน้ำหนักสดรากที่อายุ 3 MAP เท่ากับ 14.13 ± 1.70 g/ต้น และ

สูงสุดเมื่อพืชมีอายุ 12 MAP เท่ากับ 211.82 ± 61.12 g/ต้น ซึ่งใกล้เคียงกับผลการศึกษาของ ทิพย์สุตา และคณะ [15] ที่รายงานว่าต้นเจตมูลเพลิงแดงที่อายุ 12 MAP มีน้ำหนักสดรากเท่ากับ 230.0 g/ต้น สำหรับน้ำหนักแห้งรากมีค่าสูงสุดเมื่อพืชมีอายุ 12 MAP คือ 29.90 ± 8.22 g/ต้น แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับต้นที่อายุ 9 MAP ซึ่งมีน้ำหนักแห้งรากเท่ากับ 26.71 ± 4.67 g ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ ทิพย์สุตา และคณะ [15] ที่รายงานว่าต้นเจตมูลเพลิงแดงที่อายุ 12 เดือน มีน้ำหนักแห้งราก 32.74 g/ต้น



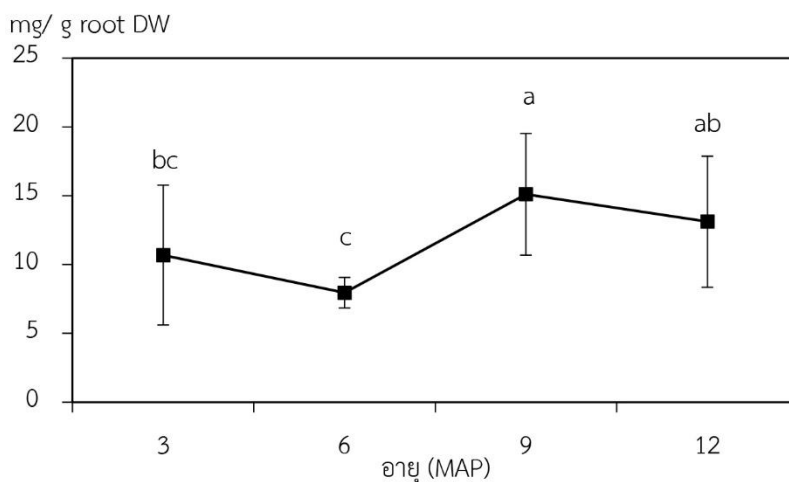
รูปที่ 4 ความยาวรากของเจตมูลเพลิงแดงที่อายุ 3 – 12 MAP



รูปที่ 5 น้ำหนักสดราก (—▲) และน้ำหนักแห้งราก (-●-) ของเจตมูลเพลิงแดงที่อายุ 3-12 MAP

การวิเคราะห์หาปริมาณสาร plumbagin จากรากเจตมูลเพลิงแดงอายุต่าง ๆ เมื่อปลูกด้วยต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าปริมาณสาร plumbagin มีค่าเพิ่มสูงขึ้นตามอายุของพืชที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 6) โดยต้นเจตมูลเพลิงแดงที่อายุ 9 MAP มีปริมาณสาร plumbagin สูงสุด เท่ากับ 15.11 ± 4.42 mg/g root DW แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับปริมาณสารของต้นอายุ 12 MAP ที่มีค่าเท่ากับ 13.11 ± 4.76 mg/g root DW ในขณะที่ต้นอายุ 3 และ 6 MAP มีปริมาณสาร plumbagin 10.69 ± 5.08

และ 7.95 ± 1.11 mg/g root DW ตามลำดับ จากการที่ต้นอายุ 3 MAP มีปริมาณสาร plumbagin สูงกว่า 6 MAP แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ทั้งนี้อาจเนื่องจากเป็นต้นที่ออกปลูกคนละรอบ จึงมีความเป็นไปได้ที่อาจมีปริมาณสารไม่เป็นตามที่คาดคะเนไว้ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณ plumbagin ของรากที่ออกปลูกด้วยต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออายุ 9-12 MAP จากการทดลองนี้ พบว่ามีค่าสูงกว่าปริมาณสารดังกล่าวของต้นอายุ 30 เดือน ที่ได้จากการปักชำกิ่งและรากเมื่อปลูกกลางแจ้ง ซึ่งมีปริมาณสารเท่ากับ 9.30 mg/g และ



รูปที่ 6 ปริมาณสาร plumbagin จากสารสกัดรากของเจตมูลเพลิงแดงที่อายุ 3-12 MAP

10.02 mg/g ซึ่งรายงานโดย นพพร และสุรัสวดี [7] แสดงให้เห็นว่าต้นที่ขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีความแข็งแรง สร้างสารได้เร็ว และมากกว่าต้นที่ขยายพันธุ์ด้วยการปักชำ สอดคล้องกับการศึกษาของ Lenora และคณะ [16] ที่รายงานว่าต้นเจตมูลเพลิงแดงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังจากย้ายปลูกในสภาพธรรมชาติเป็นเวลา 1 ปี มีการสะสมสาร plumbagin ในราก 1.80 g plumbagin/100 g root DW ซึ่งสูงกว่าพืชที่อายุเท่ากันแต่ปลูกด้วยกิ่งปักชำที่มีสารเท่ากับ 1.33 g plumbagin/100 g root DW แสดงให้เห็นว่าการขยายพันธุ์ด้วยวิธีที่แตกต่างกันส่งผลต่อการสะสมสาร plumbagin ในรากเจตมูลเพลิงแดง ดังนั้นจากการศึกษาครั้งนี้สามารถกล่าวได้ว่า ต้นเจตมูลเพลิงแดงที่ขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเก็บเกี่ยวได้เร็วประมาณ 9-12 เดือน โดยให้ปริมาณสาร plumbagin สูง (13.11 ± 4.76 ถึง 15.11 ± 4.42 mg/g root DW) อย่างไรก็ตาม อาจขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมที่ปลูกด้วย นอกจากนี้อาจจำเป็นต้องทดลองเพิ่มเติมโดยปลูกต้นเจตมูลเพลิงแดงที่ขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้มีอายุมากกว่า 1 ปี เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสาร plumbagin เมื่อต้นมีอายุมากขึ้น

4. สรุป

4.1 ต้นเจตมูลเพลิงแดงมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วง 3-9 MAP และเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่ออายุ 12 MAP

4.2 น้ำหนักสดและแห้งรากเจตมูลเพลิงแดงเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดการเพาะปลูก โดยมีค่าสูงสุดที่อายุ 12 MAP เท่ากับ 211.82 ± 61.12 g/ต้น และ 29.90 ± 8.22 g/ต้น ตามลำดับ

4.3 ต้นเจตมูลเพลิงแดงที่อายุ 9 MAP มีปริมาณสาร plumbagin สูงสุด (15.11 ± 4.42 mg/g

root DW) แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับปริมาณสารของต้นอายุ 12 MAP (13.11 ± 4.76 mg/g root DW)

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการมหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติของสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา และได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยบางส่วนจาก ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ขอขอบคุณ คุณนิภาวณีย์ ทักเกษ เจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ ที่ให้คำแนะนำในการใช้เครื่องมือในการวิจัย และคุณปรานพร คุโรปกรณ์พงษ์ สถานการแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิจัย

6. รายการอ้างอิง

- [1] Jose, B., Dhanya, B.P., Silja, P.K., Krishnan, P.N. and Satheeshkumar, K., 2014, *Plumbago rosea* L.: A review on tissue culture and pharmacological research, Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res. 25: 246-256.
- [2] วุฒิ วุฒิธรรมเวช, 2540, สารานุกรมสมุนไพร รวมหลักการเภสัชกรรมไทย, โอ.เอส.พรินติ้งเฮาส์, กรุงเทพฯ, 618 น.
- [3] สุนทรี สิงหบุตรา, 2536, สรรพคุณสมุนไพร 200 ชนิด, โอ.เอส.พรินติ้งเฮาส์, กรุงเทพฯ, 260 น.
- [4] Maniafu, B.M., Wilber, L., Ndiege, I.O., Wanjala, C.C. and Akenga, T.A., 2009, Larvicidal activity of extracts from three *Plumbago* spp against *Anopheles gambiae*, Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 104:

- 813-817.
- [5] Powolny, A.A. and Singh, S.V., 2008, Plumbagin-induced apoptosis in human prostate cancer cells is associated with modulation of cellular redox status and generation of reactive oxygen species, *Pharm. Res.* 25: 2171-2180.
- [6] Menon, J.S., Amma, S.P. and Nybe, E.V., 2001, Analysis of growth and yield in *Plumbago* spp, *J. Trop. Agric.* 39: 114-119.
- [7] นพพร คล้ายพงษ์พันธุ์ และสุรัสวดี จิวจินดา, 2547, ศึกษาวิธีการปลูกเจตมูลเพลิงแดงเป็นการค้า, รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์, โครงการวิจัยทุนอุดหนุนวิจัย ม.ก. สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 24 น.
- [8] วสุณี พูลทวี, 2544, ผลของขนาดรากต่อการขยายพันธุ์โดยวิธีการตัดชำรากของเจตมูลเพลิงแดง, ปัญหาพิเศษปริญญาตรีสาขาพืชสวน, คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม. 14 น.
- [9] วราภรณ์ ภูตะลุน, 2551, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพรร : แนวทางการศึกษาเพื่อผลิตสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา, ขอนแก่นพิมพ์พัฒนา, ขอนแก่น, 120 น.
- [10] Kumar, K.S. and Bhavanandan, K.V., 1988, Micropropagation of *Plumbago rosea* Linn, *Plant Cell Tiss. Org.* 15: 275-278.
- [11] เยาวพา จิระเกียรติกุล และเบญจา หอมสุวรรณ, 2546, การขยายพันธุ์เจตมูลเพลิงแดงโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, ว.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 11: 45-61.
- [12] Sukkarn, B. and Itharat, A., 2009, Development of the HPLC quantitative analysis of dioscorealide B from *Dioscorea membranacea* Pierre, *Thammasat Med. J.* 9: 156-163.
- [13] Itharat, A. and Sakpakdeejaroen, I., 2010, Determination of cytotoxic compounds of Thai traditional medicine called Benjakul using HPLC, *J. Med. Assoc. Thai* 93: 198-203.
- [14] นลินี ศิวาภรณ์, 2556, การป้องกันกำจัดและรักษาโรครากเน่าและโคนเน่า, หนังสือพิมพ์กสิกร 86: 36-38.
- [15] ทิพย์สุดา ปทุมณี, นพมณี โทบุญญานนท์, รังสิมา อัมพวัน, วรวรรณ ชาลีพรหม, จักรพงษ์ พิมพ์พิมล และเรณู สุวรรณพรสกุล, 2543, การศึกษาการขยายพันธุ์และการเก็บรักษาพันธุ์กรรมพืชสมุนไพรรในสภาพปลอดแก้ว, รายงานผลการวิจัย, มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่. 97 น.
- [16] Lenora, R.D.K., Dharmadasa, R.M., Abeyasinghe, D.C. and Arawwawala, L.D.A.M., 2012, Investigation in plumbagin content in *Plumbago indica* Linn. grown under different growing system, *Pharmacology* 3: 57-60.