SUT1-104-57-24-15

รายงานการวิจัย

ปีงบประมาณ 2557-2558

การอนุรักษ์และขยายพันธุ์พืชวงศ์ขิงที่หายากและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจ ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

Conservation and propagation of rare and economic plants (Zingiberaceae), Plant Genetic Conservation Project Under The Royal Initiative of Her Royal Highness, Princess Maha Chakri Sirindhorn (RSPG)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รายงานการวิจัย

ปีงบประมาณ 2557-2558

การอนุรักษ์และขยายพันธุ์พืชวงศ์ขิงที่หายากและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจ ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

Conservation and propagation of rare and economic plants (Zingiberaceae), Plant Genetic Conservation Project Under The Royal Initiative of Her Royal Highness, Princess Maha Chakri Sirindhorn (RSPG)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

รองศาสตราจารย์ ดร.หนูเดือน เมืองแสน

สาขาวิชาชีววิทยา สานักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดวงกมล แม้นศิริ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พอล เจ โกรดิ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฐิติพร มะชิโกวา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะพร แสนสุข

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2557-2558

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

มกราคม 2561

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2557-2558 คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ในการสนับสนุนสถานที่ อุปกรณ์และเครื่องมือในการทำวิจัย และขอขอบพระคุณหน่วยงานและบุคลากรที่มีส่วนเกี่ยวข้องให้ความช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่าง การจำแนกชนิด การเพาะเลี้ยง และการติดต่อประสานงาน และหวังว่ารายงานวิจัยฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ไม่มากก็น้อย

คณะผู้วิจัย

มกราคม 2561

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจ เก็บ ปลูกรวบรวมและดูแลรักษาแหล่งพันธุกรรมพืชวงศ์ขิงที่หายากและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจและขยายพันธุ์เพิ่มจำนวน โดยได้รวบรวมพืชวงศ์ขิงทั้งหมด 3 สกุล 5 ชนิดได้แก่ สกุล *Curcuma* 3 ชนิด สกุล *Kaemperia* 1 ชนิด และสกุล *Zingiber* 1 การขยายพันธุ์พืชวงศ์ขิงทั้ง 5 ชนิดด้วยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพบว่า ตูบหมูบ (*Kaempferia marginata* Carey.) สามารถเพิ่มจำนวนได้ดีที่สุด 6.6 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ เมื่อวางบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ร่วมกับฮอร์โมน KN (1:0.5 มก/ล) กระเจียวขาว *(C. parviflora* Wall.) สามารถเพิ่มจำนวนได้ดีที่สุด 4 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ เมื่อวางบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA:TDZ:NAA (4:3:0.5 มก/ล) กระเจียวขาว (*C. singularis* Gagnep.) สามารถเพิ่มจำนวนได้ดีที่สุด 2.66 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ เมื่อวางบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA:TDZ:NAA (2:2:0.5 มก/ล) ว่านชักมดลูก *(C. xanthorrhiza* Roxb.) สามารถเพิ่มจำนวนได้ดีที่สุด 3.39 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ เมื่อวางบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ความเข้มข้น 2 มก/ล และ กระทือ *(Zingiber zerumbet* (L.) Smith.) สามารถเพิ่มจำนวนได้ดีที่สุด 3.44 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ เมื่อวางบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน KN ที่ความเข้มข้น 2 มก/ล ร่วมกับการใช้น้ำมะพร้าว 20% และ proline 500 มก/ล พืชทุกชนิดสามารถชักนำให้เกิดรากและกลายเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ทั้งหมด เมื่อนำออกปลูกพบว่ามีอัตรารอดชีวิตอยู่ในช่วง 88.57% - 100%

ต้นตูบหมูบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าสองเท่า แต่มีปริมาณไขมันและไฟเบอร์ต่ำกว่าต้นที่ได้จากป่าธรรมชาติ นอกจากนี้ยังพบว่าต้นตูบหมูบที่ได้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองมีปริมาณคลอโรฟิลล์และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า ซึ่งช่วยเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจ เมื่อประเมินความแปรปรวนทางพันธุกรรมของกระเจียวขาว 1 *C. parviflora* โดยเทคนิคอาร์เอพีดีพบว่าต้นพืชตัวอย่างให้ค่าความแตกต่าง (PIC) อยู่ระหว่าง 0.94-0.99 มีค่าเฉลี่ย 0.97 แสดงถึงมีประสิทธิภาพสูงในการแยกความแตกต่างต้นพืชตัวอย่าง เดนโดรแกรมที่สร้างจากวิธี UPGMA แบ่งต้นกระเจียวขาวออกเป็นสามกลุ่มซึ่งสอดคล้องกับแหล่งที่มาของต้นพืช

คำสำคัญ : การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การอนุรักษ์ พืชที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ ขมิ้น โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช

Abstract

The objectives of this study were to collect, cultivate and maintain genetic conversation of rare and economic plants of some Zingiberaceae species and to propagate these plants via tissue culture. Five species of 3 genus Zingiberaceae including *Curcuma, Kaemperia* and *Zingiber* were investigated. The results showed that *C. parviflora* had the most multiple shoot average 4 shoots/explant in BA (4 mg/l), TDZ (3 mg/l) and NAA (0.5 mg/l). C. *singularis had* the most multiple shoot average 2.66 shoots/explant in BA (2 mg/l), TDZ 2 mg/l) and NAA (0.5 mg/l). *C. xanthorrhiza* showed the most multiple shoot average 3.39 shoots/explant in BA (2 mg/l). *K. marginata* had the most multiple shoot average 6.6 shoots/explants in BA (1 mg/l) and KN (0.5 mg/l). *Z. zerumbet* obtained the most multiple shoot average 4.44 shoots/explants in KN (2 mg/l), 20% coconut water and proline (500 mg/l). Root induction was found in all five species and completed plantlets were obtained. Regenerated plantlets when were transferred into the field had survival rate in the range of 88.57% to 100%.

In vitro K. marginata had higher protein content about 2 –fold but lower fat and fiber content compared to plants collected from nature forest. In addition *In vitro K. marginata* had higher total chlorophyll and antioxidant content that would add economic value. For genetic variation study in *C. parviflora* using RAPD technique, the results showed that, among 8 plants, the calculated PIC value was 0.94-0.99 with average 0.97 which indicates high polymorphic capability. The dendrogram using UPGMA algorithm based on RAPD markers divided these plants into three groups which appear conserved with their relative sources.

Keywords : Tissue culture, conservation, economic plants, Plant Genetic Conservation Project

สารบัญ

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย 13

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย 14

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย 14

1.4 สถานที่ทำวิจัย 15

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 15

บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม

2.1 ลักษณะทั่วไปของพืชวงศ์ขิง 16

2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพืชวงศ์ขิง 18

2.3 การกระจายพันธุ์ของพืชวงศ์ขิง 21

2.4 การขยายพันธุ์พืชวงศ์ขิง 21

2.5 ประโยชน์ของพืชวงศ์ขิง 22

2.6 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของตูบหมูบ (*Keampferia marginata* Carey.) 22

2.7 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกระเจียวขาว (*Curcuma parviflora*) 23

2.8 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกระเจียวขาว (*Curcuma sing*ularis Gagnep.) 24

2.9 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของว่านชักมดลูก (*Curcuma zanthorrhiza* Roxb.) 24

2.10 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกระทือ (*Zingiber zerumbet* (L.) Smith.) 25

2.11 เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับการขยายพันธุ์พืช 25

2.12 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุลเปราะ (*Kaempferia*) 26

2.13 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุลขมิ้น (*Curcuma*) 28

2.14 พืชวงศ์ขิงกับคุณค่าทางโภชนาการและสารอนุมูลอิสระ 32

2.15 ความแปรปรวนทางพันธุกรรมกับเทคนิคอาร์เอพีดี 33

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 พืชที่ใช้ในการทำวิจัย 34

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย 34

3.2.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตูบหมูบ (*Keampferia marginata* Carey.) 34

3.2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระเจียวขาว (*Curcuma parviflora* Wall.) 35

3.2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระเจียวขาว (*Curcuma singularis* Gagnep.) 36

3.2.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านชักมดลูก (*Curcuma zanthorrhiza* Roxb.) 37

3.2.5 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระทือ (*Zingiber zerumbet* (L.) Smith.) 38

3.3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ 39

3.4 การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการและการวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ 39

3.5 การศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมกับเทคนิคอาร์เอพีดี 40

บทที่ 4 ผลการวิจัย

4.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตูบหมูบ (*Keampferia marginata* Carey.) 42

4.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระเจียวขาว (*Curcuma parviflora* Wall.) 55

4.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระเจียวขาว (*Curcuma singularis* Gagnep.) 67

4.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านชักมดลูก (*Curcuma zanthorrhiza* Roxb.) 71

4.5 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระทือ (*Zingiber zerumbet* (L.) Smith.) 72

4.6 การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการและการวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ 80

4.7 ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยเทคนิคอาร์เอพีดี 80

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

5.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตูบหมูบ (*Keampferia marginata* Carey.) 87

5.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระเจียวขาว (*Curcuma parviflora* Wall.) 88

5.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระเจียวขาว (*Curcuma singularis* Gagnep.)..... 91

5.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านชักมดลูก (*Curcuma zanthorrhiza* Roxb.)..... 92

5.5 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระทือ (*Zingiber zerumbet* (L.) Smith.) 92

5.6 การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการและการวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ 93

5.7 ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยเทคนิคอาร์เอพีดี 93

เอกสารอ้างอิง..... 94

ประวัตินักวิจัย 99

ผลงานวิจัยเผยแพร่ระดับนานาชาติ 104

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1.1 พืชวงศ์ขิงที่พบในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืชเขื่อนน้ำพุง จ.สกลนครและพื้นที่มหาวิทยาลัย จ.นครราชสีมา 17

ตารางที่ 3.1 พืชที่ใช้ในการทำวิจัย 34

ตารางที่ 3.2 ส่วนของพืชและแหล่งที่มาสำหรับที่นำมาวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร 39

ตารางที่ 4.1 เปรียบเทียบวิธีการฟอกฆ่าเชื้อเหง้า 43

ตารางที่ 4.2 ผลของฮอร์โมน BA ร่วมกับ Kinetin ที่เหมาะสมต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดแคลลัส ต้นและราก 46

ตารางที่ 4.3 ผลของฮอร์โมน BA ร่วมกับ TDZ ที่เหมาะสมต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดแคลลัส ต้นและราก 50

ตารางที่ 4.4 ผลของฮอร์โมน TDZ ที่เหมาะสมต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดแคลลัส ต้นและราก 53

ตารางที่ 4.5 เปรียบเทียบวิธีการฟอกฆ่าเชื้อตาเหง้ากระเจียวขาวที่ได้จากสภาพธรรมชาติและตาเหง้ากระเจียวขาวที่เกิดยอดใหม่ ฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์ 56

ตารางที่ 4.6 การเปรียบเทียบสูตรอาหารเพาะเลี้ยงกระเจียวขาวในการเพิ่มจำนวนยอดและราก เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ 60

ตารางที่ 4.7 ผลของชนิดอาหารต่อการเพิ่มจำนวนยอดและรากของกระเจียวขาวในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 0.5 มก/ล ร่วมกับ IBA 0.5 มก/ล เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ .. 64

ตารางที่ 4.8 ผลของ BA:TDZ:NAA (มก/ล) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการเกิดยอดและรากของกระเจียวขาว ภายหลัง 4 สัปดาห์ของการเพาะเลี้ยง 67

ตารางที่ 4.9 ผลของ BA:TDZ:NAA (มก/ล) ร่วมกับการใช้น้ำมะพร้าวความเข้มข้น 5%, 10%, 15% และ 20% กระเจียวขาว ภายหลัง 4 สัปดาห์ของการเพาะเลี้ยง 68

ตารางที่ 4.10 ผลของ IBA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการเกิดรากของกระเจียวขาว ภายหลัง 4 สัปดาห์ของการเพาะเลี้ยง 69

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ 4.11 ผลของ BA (2 มก/ล) ต่อการเกิดยอดของกระเจียวขาว ภายหลัง 4 สัปดาห์ของการเพาะเลี้ยง 71

ตารางที่ 4.12 ผลของ BA, IAA, IBA, KN น้ำมะพร้าวที่ความเข้มข้น 20% และ proline, casein ที่ความเข้มข้น 500 มก/ล ต่อการเกิดยอดของกระทือ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์. 73

ตารางที่ 4.13 ผลของ BA, IAA, IBA, KN น้ำมะพร้าวที่ความเข้มข้น 20% และ proline, casein ที่ความเข้มข้น 500 มก/ล ต่อการเกิดยอดของกระทือ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์. 75

ตารางที่ 4.14 ต้นกระทือที่ย้ายออกปลูกในวัสดุปลูกต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ 78

ตารางที่ 4.15 ปริมาณโปรตีน ไขมัน ไฟเบอร์ คลอโรฟิลล์และสารแอนตี้ออกซิแดนซ์ของต้นตูบหมูบที่ได้จากแหล่งป่าธรรมชาติและจากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง (n=3) 80

ตารางที่ 4.16 คุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอของกระเจียวขาว *C. parviflora* จำนวน 8 ต้นที่ได้จากเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองและจากป่าธรรมชาติ 81

ตารางที่ 4.17 ไพรเมอร์อาร์เอพีดี ลำดับเบส จำนวนอัลลีล ขนาดของแถบดีเอ็นเอ polymorphic bands และ monomorphic bands และค่า PIC 85

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญภาพ

ภาพที่ 4.1 เปรียบเทียบวิธีการฟอกฆ่าเชื้อเหง้า..... 44

ภาพที่ 4.2 ลักษณะของแคลลัส ต้นและรากตูบหมูบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ร่วมกับ Kinetin ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์..... 47

ภาพที่ 4.3 ลักษณะของแคลลัส ต้นและรากตูบหมูบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมนBA ร่วมกับ Kinetin ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์ (ต่อ)..... 48

ภาพที่ 4.4 ลักษณะของแคลลัส ต้นและรากตูบหมูบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์..... 51

ภาพที่ 4.5 ลักษณะของต้นตูบหมูบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์ (ต่อ)..... 52

ภาพที่ 4.6 ลักษณะของแคลลัส ต้นและรากตูบหมูบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์..... 54

ภาพที่ 4.7 กระเจียวขาวที่นำมาฟอกฆ่าเชื้อ..... 57

ภาพที่ 4.8 การเพิ่มจำนวนกระเจียวขาว..... 58

ภาพที่ 4.9 การเปรียบเทียบสูตรอาหารเพาะเลี้ยงกระเจียวขาวในการเพิ่มจำนวนยอด เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น แตกต่างกัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์..... 61

ภาพที่ 4.10 การเปรียบเทียบสูตรอาหารเพาะเลี้ยงกระเจียวขาวในการเพิ่มจำนวนราก เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น แตกต่างกัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์..... 62

ภาพที่ 4.11 ผลของชนิดอาหารต่อการเพิ่มจำนวนยอดและรากของกระเจียวขาวเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 0.5 มก/ล ร่วมกับ IBA 0.5 มก/ล เป็นเวลา 6 สัปดาห์..... 65

ภาพที่ 4.12 ลักษณะยอดและรากของกระเจียวขาวที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน BA:TDZ:NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0:0:0 (ก), 4:1:0.5 (ข), 4:2:0.5 (ค), 4:3:0.5 (ง), 4:4:0.5 (จ) มก/ล เป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 67

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ 4.13 ลักษณะยอดและรากของกระเจียวขาวที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน BA:TDZ:NAA (4:2:0.5 มก/ล) ร่วมกับกับการใช้น้ำมะพร้าวเป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 68

ภาพที่ 4.14 ลักษณะรากของกระเจียวขาวที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน IBA แตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 69

ภาพที่ 4.15 ลักษณะต้นกระเจียวขาวเมื่อนำออกปลูกในสภาวะเรือนกระจกอายุ 4 สัปดาห์..... 70

ภาพที่ 4.16 ลักษณะต้นกระเจียวขาวเมื่อนำออกปลูกในสภาวะเรือนกระจกอายุ 3 เดือน..... 70

ภาพที่ 4.17 ลักษณะยอดและรากของว่านชักมดลูกบนอาหารสูตร MS+BA 2 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 71

ภาพที่ 4.18 ลักษณะยอดของกระทือบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับการใช้ฮอร์โมนแตกต่างกันที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 74

ภาพที่ 4.19 ลักษณะยอดของกระทือบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับการใช้ฮอร์โมนแตกต่างกันที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 76

ภาพที่ 4.20 ต้นกระทือที่ย้ายออกปลูกในวัสดุปลูกต่างๆ..... 79

ภาพที่ 4.21 การตรวจสอบคุณภาพของจีโนมิกส์ดีเอ็นเอของกระเจียวขาวจำนวน 8 ตัวอย่าง..... 81

ภาพที่ 4.22 แถบดีเอ็นเอจากการประเมินไพรเมอร์อาร์เอพีดีในกระเจียวขาวจำนวน 11 ไพรเมอร์ ... 83

ภาพที่ 4.23 แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้จากการใช้ไพรเมอร์ S10..... 83

ภาพที่ 4.24 แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้จากการใช้ไพรเมอร์ S29..... 84

ภาพที่ 4.25 แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPX2..... 84

ภาพที่ 4.26 แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPX14..... 84

ภาพที่ 4.27 เดนโดรแกรมของกระเจียวขาวจำนวน 8 ต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองและจากต้นในธรรมชาติโดยการวิเคราะห์ UPGMA cluster analysis แสดง relative similarity ที่ได้จากเครื่องหมาย RAPD..... 68

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ความหลากหลายทางชีวภาพของพันธุกรรมพืชในประเทศไทยและทั่วโลกมีแนวโน้มลดน้อยลงอย่างรวดเร็วอันเนื่องจากการเพิ่มของทรัพยากรมนุษย์และภัยธรรมชาติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเขตพื้นที่ป่าร้อนชื้น อันส่งผลให้ทรัพยากรธรรมชาติอื่นๆ ได้แก่ พรรณพืช สัตว์ป่า แม่น้ำ ถูกทำลายจนสูญสิ้นพันธุ์ และมีผลกระทบต่อความเป็นอยู่ทางด้านเศรษฐกิจ สังคม การเมืองและความมั่นคงของธรรมชาติโดยรวม

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีเป็นหน่วยงานหนึ่งที่ตระหนักถึงความรับผิดชอบต่อการอนุรักษ์และศึกษาการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรพันธุ์พืชที่มีอยู่ในท้องถิ่น และได้ร่วมสนองพระราชดำริในโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา สยามบรมราชกุมารีและได้ปฏิบัติงานสนองพระราชดำริตามแผนแม่บทโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ระยะ 5 ปีที่ 5 (ตุลาคม 2554 - กันยายน 2559) โดยมุ่งเน้นศึกษาการอนุรักษ์ การขยายพันธุ์ และใช้ประโยชน์พันธุกรรมพืช คณะปฏิบัติการวิจัยมทส. ได้ร่วมปฏิบัติงานสำรวจทรัพยากรชีวภาพและกายภาพในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนน้ำพุง จ. สกลนคร ร่วมกับการไฟฟ้าฝ่ายผลิตแห่งประเทศไทยและคณะปฏิบัติการอพ.สธ. และปฏิบัติงานสำรวจทรัพยากรชีวภาพและกายภาพพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ในช่วงปีงบประมาณ 2554 - 2555

ผลการสำรวจในเบื้องต้นในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช เขื่อนน้ำพุง จ.สกลนครโดย อ. ดร.พอล เจ โกรดิ รศ. ดร.หนูเดือน เมืองแสนและคณะ ได้พบพรรณพืชไม่น้อยกว่า 270 ชนิด ใน 212 สกุล และ 83 วงศ์ วงศ์ที่มีจำนวนชนิดมากที่สุดคือ พืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) 19 ชนิด และ Fabaceae (45 ชนิด) (พอล และคณะ, 2556) ในจำนวนพรรณพืชวงศ์ขิงนี้พบทั้งพืชสี พืชอาหาร พืชสมุนไพรและพืชที่มีศักยภาพต่อการพัฒนาคุณค่าทางเศรษฐกิจ ผู้วิจัยจึงสนใจทำการศึกษา สำรวจ รวบรวมเพิ่มเติม ขยายพันธุ์พืชด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและศึกษาการใช้ประโยชน์พืชกลุ่มวงศ์ขิงที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ เพื่อการอนุรักษ์และเพื่อสนองพระราชดำริในกิจกรรม 4 กิจกรรมปลูกรักษาพันธุกรรมพืช ซึ่งจะมีทั้งการปลูกในพื้นที่ การเก็บรักษาในรูปเนื้อเยื่อโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และการเก็บรักษาพันธุกรรมในรูปดีเอ็นเอ เพื่อสนองพระราชดำริโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมในกิจกรรม 4 กิจกรรมอนุรักษ์และใช้ประโยชน์พันธุกรรมพืช โครงการวิจัยนี้จะมุ่งเน้นในการนำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยง

เนื้อเยื่อมาใช้ในการขยายพันธุ์และเก็บรักษาพันธุกรรมของพืชวงศ์ขิงเหล่านี้ พร้อมศึกษาคุณค่าทางโภชนาการและสารต้านอนุมูลอิสระ เพื่อการอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์ต่อไป ซึ่งจะก่อให้เกิดประโยชน์หลายประการ เช่น เป็นแหล่งศึกษาทางด้านพฤกษศาสตร์ นิเวศวิทยา พันธุกรรมพืช และยังใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อการศึกษาการพัฒนา ผลิตพันธุ์จากพืชดังกล่าว เพื่อให้งานของโครงการบรรลุวัตถุประสงค์ตามความต้องการ รวมทั้งได้รับประโยชน์ หรือผลพลอยได้จากการดำเนินงานที่ผ่านมาเพื่อขยายผลต่อไปในอนาคต โครงการวิจัยนี้ จึงมีความประสงค์เสนอของบประมาณเพื่อให้สามารถดำเนินกิจกรรมสืบต่อไป เพื่อความยั่งยืนของการอนุรักษ์ทรัพยากรพันธุ์พืช

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อสนองพระราชดำริโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี (อพ.สธ.)

2. เพื่อสำรวจ เก็บ ปลูกรวบรวมและดูแลรักษาแหล่งพันธุกรรมพืชวงศ์ขิงที่หายากและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจ ภายในมหาวิทยาลัยและขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนให้มากขึ้น

3. เพื่อหาสภาวะและสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชวงศ์ขิงบางชนิด

4. เพื่อศึกษาคุณค่าทางโภชนาการและสารต้านอนุมูลอิสระของพืชวงศ์ขิงบางชนิดเพื่อเพิ่มมูลค่าให้สูงขึ้น

5. เพื่อศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชวงศ์ขิงบางชนิดด้วยเทคนิค RAPD-PCR

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1. สำรวจและเก็บตัวอย่างพืชวงศ์ขิงที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ ซึ่งมีทั้งที่เป็นพืชอาหาร สมุนไพร พืชหายาก จากพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืชเขื่อนน้ำพุง จ.สกลนคร และพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีหรือพื้นที่ใกล้เคียง

2.รวบรวมและปลูกขยายพันธุ์พืชวงศ์ขิงที่เป็นพืชอาหาร พืชสมุนไพรและพืชหายากในท้องถิ่นแบบยั่งยืน

3. ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการและสารต้านอนุมูลอิสระของพืชวงศ์ขิงเพื่อเพิ่มมูลค่าให้สูงขึ้น

4. ศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชวงศ์ขิงบางชนิดด้วยเทคนิค RAPD-PCR

1.4 สถานที่วิจัย

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สาขาวิชาชีววิทยา สานักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (SC1-306) ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม

1.5 ทฤษฎี สมมติฐาน และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

1.4.1 การรวบรวมและปลูกขยายพันธุ์พืชวงศ์ขิงที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจในพื้นที่มหาวิทยาลัย เพื่อเป็นแหล่งศึกษาด้านพฤกษศาสตร์ นิเวศวิทยา การปลูกเลี้ยง และการบำรุงรักษา เพื่อปกปักพันธุกรรมพืชให้คงอยู่อย่างยั่งยืน

1.4.2 เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการขยายพันธุ์พืชที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ ให้ได้จำนวนมากในเวลารวดเร็ว และได้พืชที่มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนเดิม อย่างไรก็ตาม พืชแต่ละชนิดมีสูตรอาหารที่เหมาะสมและสภาวะในการเพาะเลี้ยงต่างกัน ดังนั้นจึงจำเป็นที่ต้องทราบเบื้องต้นว่า สภาพในการเพาะเลี้ยง และสูตรอาหารใดที่เหมาะสมในเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้ได้จำนวนมากในแต่ละชนิด

1.4.3 พืชแต่ละชนิดมีคุณค่าทางโภชนาการและสารต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน ทำให้เกิดการเพิ่มมูลค่าให้สูงขึ้น

1.5.4 ความผันแปรทางพันธุกรรมที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถตรวจสอบที่ระดับดีเอ็นเอด้วยเทคนิค RAPD-PCR

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นองค์ความรู้การวิจัยต่อไปกลุ่มเป้าหมาย: กรมป่าไม้ กรมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยต่างๆ

2. บริการความรู้แก่ประชาชน กลุ่มเป้าหมาย: เกษตรชุมชน นักเรียน นักศึกษา องค์การบริหารส่วนตำบล

3. เป็นประโยชน์ต่อประชาชนกลุ่มเป้าหมาย กลุ่มเป้าหมาย: ชมรมอนุรักษ์

4. อื่นๆ (ระบุ) เก็บรักษาพันธุกรรมพืชที่หายากและที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจในประเทศไทย กลุ่มเป้าหมาย: หน่วยงานร่วมสนองพระราชดำริโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องพระราชดำริ

บทที่ 2

บทตรวจเอกสาร

2.1 ลักษณะทั่วไปของพืชวงศ์ขิง

พืชวงศ์ขิง (Zingiberaceae) เป็นพืชล้มลุกอายุหลายปีที่เจริญเติบโตได้ดีทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่นที่มี ความชื้นสูง พบการกระจายพันธุ์อยู่ในทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สามารถกระจายได้บริเวณกว้าง ตั้งแต่ความสูงระดับต่ำสุดจนถึงระดับสูง 2,000 เมตร จากระดับน้ำทะเล พืชวงศ์นี้มีลักษณะพิเศษคือ ทุกส่วน ของต้นมีกลิ่นของน้ำมันหอมระเหย (essential oil) ใช้เป็นเครื่องเทศ เป็นพืชสมุนไพรมีสรรพคุณเป็นยา เช่น กระชายดำ ว่านชักมดลูก ขิงข่าเป็นต้น ใช้ทำอาหาร เช่น ขิง ข่า ขมิ้น กระเจียวขาว กระเจียวแดง และกระชาย สีย้อม เครื่องสำอาง บางชนิดมีดอกและใบที่สวยงามใช้เป็นไม้ดอกไม้ประดับ ส่งออกขายต่างประเทศ เช่น ปทุมมา ดาหลา ขิงแดง ประเทศไทยมีความหลากหลายของพืชวงศ์ขิงนี้สูง มีรายงานพบ 26 สกุล 300 ชนิด (Larsen and Larsen, 2006) ในประเทศไทยพืชหลายชนิดที่อยู่ในวงศ์ขิงถูกจัดว่าเป็นพืชพบเฉพาะถิ่น (endemic plants) 45 ชนิด และพืชหายาก (rare plants) 120 ชนิด (ได้มีการตรวจสอบตาม IUCN Red list และ Thai Red List และรายงานประเมินสถานภาพโดย สุรพล แสนสุข (สุรพล, 2554)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 1.1 พืชวงศ์ขิงที่พบในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืชเขื่อนน้ำพุง จ.สกลนครและพื้นที่มหาวิทยาลัย จ.นครราชสีมา (พอล และคณะ, 2556)

เลขที่	ชื่อพื้นเมือง	ชื่อวิทยาศาสตร์	สถานภาพ	ประโยชน์
1	ข่าป่า	*Alpinia galanga*		พืชอาหาร พืชสมุนไพร
2	กระชายดอกสีขาวม่วง	*Boesenbergia baimaii*	พืชหายาก พืชเฉพาะถิ่น	พืชสมุนไพร
3	กระชายแดง	*Boesenbergia rotunda*		พืชสมุนไพร
4	กระชาย	*Boesenbergia* sp.	พืชหายาก	พืชอาหาร พืชสมุนไพร
5	เอื้องหมายนา	*Costus speciosus*		ไม้ประดับ
6	กระเจียว ปทุมมา	*Curcuma alismatifolia*		ไม้ประดับ
7	กระเจียวแดง	*Curcuma sessilis*		ไม้ประดับ พืชอาหาร
8	กระเจียวขาว	*Curcuma singularis*		ไม้ประดับ พืชอาหาร
9	กระเจียวขาว	*Curcuma parviflora*		ไม้ประดับ
10	เข้าพรรษา	*Globba panicoides*	พืชหายาก	ไม้ประดับ
11	เข้าพรรษา	*Globba annamensis*	พืชหายาก	ไม้ประดับ
12	เปราะเถื่อน	*Kaempferia laotica*	พืชหายาก	พืชอาหาร พืชสมุนไพร
13	เปราะสยาม	*Kaempferia siamensis*	พืชหายาก พืชเฉพาะถิ่น	พืชอาหาร พืชสมุนไพร
14	ตูบหมูบ/เปราะ	*Kaempferia marginata* Gagnep.	พืชหายาก	พืชอาหาร พืชสมุนไพร
15	ขิงกระต่าย	*Zingiber juncium*	พืชหายาก	พืชอาหาร พืชสมุนไพร
16	จอกแดง	*Stahlianthus thorelii* Gagnep.	N/A	พืชสมุนไพร
17	กระทือ	*Zingiber zerumbet* phupanensis	พืชเฉพาะถิ่น	ไม้ประดับ

2.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพืชวงศ์ขิง

พืชวงศ์ขิงเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ไม้ล้มลุกเนื้ออ่อน (herb) เจริญบนดิน พบน้อยที่เป็นพืชอิงอาศัย (epiphyte) และมีอายุได้หลายปี (perennial) ทุกส่วนของพืชมีกลิ่นหอม โดยส่วนเหง้ามีกลิ่นหอมมากที่สุด

ลักษณะวิสัย (habit)

ราก (root) เป็นระบบรากฝอย แตกออกจากข้อส่วนโคนของเหง้า อาจมีการสะสมอาหารเช่น สกุล Boesenbergia และ Globba โดยพองออกเป็นหัวรูปรียาว นอกจากนี้บริเวณปลายของรากฝอยมีการสะสมอาหารโดยพองออกรูปรีสั้นหรือรูปไข่ เช่น สกุล Boesenbergia สกุล Curcuma สกุล Globba และสกุล Kaempferia

ลำต้น (Stem) มี 2 ชนิดคือ ลำต้นใต้ดิน (underground stem) และลำต้นเหนือดิน (aerial stem)

1. ลำต้นใต้ดินหรือเหง้า (Rhizome) เจริญที่ผิวดินในบางสกุลเช่น สกุล Etlingera มีเหง้าฝังอยู่ใต้ผิวดิน สำหรับสกุล Homsted และ Geostchys มีเหง้าอยู่เหนือผิวดินทำหน้าที่ค้ำจุนลำต้นเหนือดิน เหง้ามีการเจริญเติบโตในแนวระนาบแบบเจริญทางข้าง (sympodial) เหง้าแตกแขนงได้ที่ปลายของทุกแขนงมีตาที่เจริญเป็นลำต้นเหนือดินหรือช่อดอกหรือทั้งลำต้นเหนือดินหรือช่อดอก เหง้าสามารถเจริญใหม่ได้จากตาที่หุ้มด้วยเกล็ดใบซึ่งอยู่ใกล้กับโคนลำต้นเหนอดินแล้วเหง้าก็เจริญแบบนี้ต่อกันไปเรื่อยๆ ขนาดของเหง้าอาจจะสั้นหรือยาว หนาหรือบาง แปรผันไปตามแต่ละชนิด พืชหลายชนิดในวงศ์นี้จะพักตัวในฤดูแล้งโดยลำต้นเหนือดินเหี่ยวแห้งตายเหลือเฉพาะเหง้าพักตัวอยู่ใต้ผิวดิน พอถึงฤดูฝนลำต้นเหนือดินและตาดอกก็จะเกิดขึ้นจากตาเหง้าอีกครั้งหนึ่ง

2. ลำต้นเหนือดิน เป็นกาบใบที่โอบซ้อนกันเป็นลำต้นเทียม (pseudostem) ไม่แตกสาขา บางชนิดกาบใบสั้นและมีใบ 1-2 ใบ จึงมักเห็นเพียงแผ่นใบแบนราบติดกับผิวดินเช่น สกุล Kaempferia และ Scaphochlamys สำหรับพืชในวงศ์นี้ที่มีลำต้นเหนือดินสูงสุดได้แก่ สกุล Etlingera ซึ่งลำต้นอาจสูงได้ถึง 5 เมตร เมื่อมีสภาพภูมิอากาศที่ไม่เหมาะสม ลำต้นเหนือดินจะเหี่ยวเฉาลง จนกรนะทั่งถึงฤดูฝนปีถัดมาจะเจริญขึ้นมาใหม่ในระยะเวลาใกล้เคียงกันทุกปี รวมทั้งการสร้างช่อดอก ดอก ผล และเมล็ดก่อนที่จะเหี่ยวไปอีกครั้ง

พืชสกุล Alpinia และสกุล Etlingera มีลำต้นภายในลำต้นที่แท้จริงจนถึงปลายยอด ส่วนสกุล Etlingera มีลำต้นที่แท้จริงอยู่ในระยะที่ 3 ใน 4 ของความสูงทั้งหมด ลำต้นที่แท้จริงเป็นเนื้อเยื่ออ่อนและมีกาบใบ

หุ้มอยู่รอบที่ส่วนโคนมีข้อปล้องสั้น สูงขึ้นไปปล้องจะยาวขึ้น สำหรับสกุลอื่นๆ มีกาบใบอัดแน่นทำให้คล้ายลำต้นจริง

ใบ (leaf) เป็นใบเดี่ยว (simple leaf) เรียงสลับในระนาบเดียวกัน แนวการเรียงของใบขนานกับเหง้า เช่น เผ่า Hedychieae, Globbeae และ Zingibereae ส่วนเผ่า Alpinieae แนวการเรียงของใบตั้งฉากกับเหง้า มีจำนวนใบตั้งแต่ 2 ใบ ยกเว้นพืชในสกุล Kaempferia บางชนิดที่มี 1 ใบ ใบล่างสุดพบที่ระยะ 1 ใน 3 ของความสูงลำต้น โดยที่ใบบริเวณนี้มีขนาดสั้น และแคบกว่าใบที่อยู่สูงขึ้นไป ใบมีส่วนประกอบที่สำคัญคือ แผ่นใบ (blade) ลิ้นใบ (ligule) ก้านใบ (petiole) และกาบใบ (leaf sheath) ดังนี้

1. แผ่นใบ มีลักษณะเป็นรูปรี รูปหอกกลีบ รูปขอบขนาน หรือรูปกลมมน ปลายใบแหลมถึงเรียวแหลม ฐานใบแหลม มน หรือเว้า เนื้อใบบางหรือค่อนข้างบางขอบใบเรียบ ผิวใบเกลียง ยกเว้นบางชนิดมีขนสั้นสีเขียว บางชนิดพบสีม่วงมากว่าสีอื่นๆ หรือพบสีม่วงทั้งแผ่นใบ ขนาดของแผ่นใบมีความแตกต่างกันตามชนิด บางชนิดมีขนาดใหญ่ยาวประมาณ 1 เมตรแต่ไม่พบว่ามีความยาวมากกว่า 1 เมตร และใบที่อยู่บนลำต้นเดียวกันมีขนาดแตกต่างกันไป
2. ลิ้นใบ มีลักษณะเป็นเยื่อบาง หรือเป็นขนสั้นเรียงเป็นแถวอยู่ที่รอยต่อระหว่างกาบใบกับแผ่นใบด้านบน
3. ก้านใบ ส่วนใหญ่มีก้านใบสั้นและไม่มีก้านใบ แต่บางสกุลเช่น Curcuma และ Cenolophon มีก้านใบยาว เชื่อมติดกับแผ่นใบและกาบใบ
4. กาบใบ แยกออกจากกัน กาบใบสกุล Alpinia และ Etlingera มีความยาวมากและโอบหุ้มแน่น

ช่อดอก (inflorescence) การเกิดของช่อดอกมี 2 แบบคือ ออกจากปลายยอดของลำต้นเหนือดิน และจากตาของเหง้าบริเวณโคนของลำต้นเหนือดิน ก้านช่อดอกมีกาบใบโอบหุ้มรอบ ชูตั้งตรง บางชนิดโค้งงอทอดราบไปกับพื้นดิน ช่อดอกมีแขนงช่อดอกขนาดสั้นๆแตกออกมาด้านข้างและเรียงวนเป็นเกลียวรอบแกนกลางช่อดอก จำนวนหลายแขนง แต่ละแขนงมีดอกจำนวนมาก บางชนิดลดรูปเหลือเพียงดอกเดียว แขนงช่อดอกแต่ละอันมีใบประดับย่อย (bracteole) รองรับ แต่ในสกุล Boesenbergia มีใบประดับ (bract) เรียงสองแถว พรรณไม้ที่มีแขนงช่อดอกเป็นพรรณไม้ที่มีลักษณะโบราณ ดอกในแขนงช่อดอกแต่ละอันมีใบประดับย่อยรองรับ ลักษณะของใบประดับย่อยที่เชื่อมเป็นหลอดพบได้ในเผ่า Alpineae และรูปถ้วยมีรูเปิดแยกพบในเผ่า Hedychieae ในสกุลที่มีการพัฒนาของแขนงช่อดอกดีพบว่ามีใบประดับย่อยเชื่อมเป็นหลอดหรือเป็นรูปถ้วยทุกแขนงช่อดอก

ช่อดอกมีหลายแบบ โดยเกิดจากการเปลี่ยนรูปและมีความแตกต่างกันไปตามเผ่าและสกุล เช่นมีการลดรูปและขนาดของใบประดับ พบในสกุล Alpinia ในหลายสกุลแขนงช่อดอกลดรูปเหลือดอกเพียงดอกเดียว บางสกุลมีจำนวนดอกในแขนงช่อดอกมากแต่ความยาวของแกนแขนงช่อดอกสั้นลงและมีดอกอัดแน่นที่ส่วนโคนของใบประดับ โดยดอกยื่นออกมานอกใบประดับเช่น สกุล Curcuma, Camptandra และ Scaphochlamys

ดอก (Flower) ดอก มีส่วนประกอบที่สำคัญได้แก่ กลีบเลี้ยง (calyx) กลีบดอก (corolla) เกสรเพศผู้ที่เป็นหมัน (staminode) เกสรเพศผู้ (stamen) และเกสรเพศเมีย (pistil)

กลีบเลี้ยง โคนเชื่อมกันเป็นหลอด (calyx) ปลายแยกเป็น 1-3 แฉก (lobes) โดยแฉกด้านใดด้านหนึ่งเว้าลึกมากที่สุด

กลีบดอก โคนเชื่อมกันเป็นหลอด (corolla tube) ปลายแยกเป็น 3 แฉก โดย 1 แฉกเป็นแฉกบนมีขนาดใหญ่กว่าแฉกข้าง 2 แฉก

เกสรเพศผู้ ที่เป็นหมันมี 5 อัน โดย 3 อันเชื่อมติดกันและแผ่เป็นแผ่นแบนกว้าง เปลี่ยนหน้าที่ไปล่อแมลง เนื่องจากมีขนาดใหญ่และสีสันสวยงาม เรียกว่ากลีบปาก (labellum) สำหรับกลีบปากนี้มีขนาดใหญ่ที่สุดในดอกและเด่นชัด ส่วนขนาดและรูปร่างแปรผันไปตามชนิดอีก 2 อัน อยู่ที่บริเวณโคนของกลีบปาก เรียกว่าเกสรเพศผู้ที่เป็นหมัน (staminode) ซึ่งมีขนาดใหญ่ เล็ก หรือลดรูปไปพบว่าในเผ่า Hedychieae มีการพัฒนาของเกสรเพศผู้ที่เป็นหมันดี ส่วนเผ่า Alpineae และ Zingiberaceae ลดรูปไปหรือเชื่อมติดกับกลีบปาก ในสกุล Caulokaempferia มีเกสรเพศผู้ที่เป็นหมันและกลีบปากขนาดใหญ่ชัดเจน ส่วนสกุล Zingiber มีเกสรเพศผู้ที่เป็นหมันเชื่อมติดกับกลีบปาก

เกสรเพศผู้ มีก้านเกสรสั้น (filament) แต่ในบางสกุล เช่น สกุล Globba มีก้านเกสรยาว อับเรณู (anther) มี 2 อันเรียงตามแนวยาวขนานกัน เมื่อแก่แตกออกตามยาว มีสันเหนือเกสรเพศผู้ (anthwe-crest) แผ่เป็นแผ่นแบน หรือรูปร่างเรียวยาว

เกสรเพศเมีย มีรังไข่ฝังอยู่ใต้ฐานรองดอก (inferior ovary) พรรณไม้ส่วนใหญ่ในเผ่า Alpineae, Hedychieae และ Zingibereae รังไข่มี 3 ห้อง (locules) และออวุล (ovule) ติดแบบพลาเซนตารอบแกนร่วม (axile placenta) บางชนิดมี 1 ห้องและออวุลติดแบบพลาเซนตาที่ฐาน สำหรับเผ่า Globbeae รังไข่มีช่องเดียวและออวุลติดแบบพลาเซนตาแนวตะเข็บ มีออวุลจำนวนมาก ในสกุล Alpinia มีออวุลน้อย ส่วน Scaphochlamys มีเพียงออวุลเดียว ก้านเกสรเพศเมียเรียวยาวแนบติดก้านเกสรเพศผู้ ที่โคนของก้านเกสรเพศเมียมีต่อมน้ำต้อย (nectary) บางชนิดลดรูปไปเป็นแอ่งหรือบางชนิดมามีต่อมน้ำต้อย

ผล (fruit) ผลมีผลสองแบบคือ แบบแคปซูล (capsule) และแบบที่มีเนื้อนุ่มเปลือกบางเหนียว บางชนิดเมื่อกาแตกออก บางชนิดไม่แตก ผลแก่แล้วแตกพบเป็นจำนวนน้อยกว่า พบในสกุล Globba, Hedychium, Roscoea และ Zingiber ผลของสกุล Alpinia พบว่าผลจะแตกออกเมื่อบีบเบาๆ แต่จะไม่แตกเอง

เมล็ด (seed) รูปรี (elliptic) หรือรูปไข่ (ovate) มีมุมที่ค่อนข้างแข็ง มีเยื่อหุ้มบางๆ ภายในเมล็ดประกอบด้วยนิวเซลลัส (nucellus) สีขาว มีการสะสมแป้ง เอนโดสเปิร์ม อยู่ล้อมออวุลบริเวณโคนของเมล็ดมีเนื้อเยื่อ (plug) อุดอยู่แน่นและเมื่อเมล็ดงอกรากแรกเกิด (radicle) จะดันเนื้อเยื่อนี้ให้หลุดไป (สุรพล, 2543)

2.3 การกระจายพันธุ์ของพืชวงศ์ขิง

พืชวงศ์ขิงพบทั่วไปในเขตร้อน มีการกระจายพันธุ์อยู่ในบริเวณเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบหนาแน่นในแถบมาเลเซีย สุมาตรา บอร์เนียว ชวา อินโดนีเซีย ไทย และแพร่กระจายพันธุ์ทั่วไปในเอเชียเขตร้อน เช่น จีนตอนบน อินเดีย และพม่า ทั่วโลกมีประมาณ 50 สกุล 1,500 ชนิด สำหรับในประเทศไทยอาจพบได้ประมาณ 26 สกุล 300 ชนิด (Larsen and Larsen, 2006)

2.4 การขยายพันธุ์พืชวงศ์ขิง

2.3.1 เมล็ด (seed) พบว่าขิงติดเมล็ดได้ยากในประเทศไทย ดังนั้นผู้ปลูกเลี้ยงจะต้องหมั่นสังเกตดอกแห้งถ้าต้องการเก็บเมล็ดพันธุ์ ควรเพาะเมล็ดในวัสดุเพาะที่คุณสมบัติเป็นกรดเล็กน้อยระบายน้ำดี และกลบด้วยวัสดุเพาะบาง ๆ เวลาการงอกของเมล็ดไม่แน่น แต่งอกเร็วเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดธรรมรักษา

2.3.2 ใช้ตะเกียง (Aerial offshoots) ช่อดอกของขิงแดงเมื่อแก่จะสร้างตะเกียง หรือหน่อเล็ก ๆ ที่โคนกลีบประดับ สามารถแยกตะเกียงออกจากช่อดอกและปลูกได้ทันที แต่จะให้ผลดีถ้าตะเกียงมาชำให้เกิดรากก่อน โดยจะมีการสร้างราก 4-8 สัปดาห์หลังการชำ

2.3.3 การแยกหน่อ (Division) กิ่งหน่อใหม่จะเกิดที่ส่วนบนของเหง้าของต้นแม่ การแยกหน่อมักทำโดยใช้หน่อที่ไม่แก่เกินไปนัก ให้มีส่วนของเหง้ายาวประมาณ 5 นิ้ว และส่วนของต้นเทียมยาว 8-12 นิ้ว แล้วนำมาปักชำในกระบะชำ หรือถุงพลาสติก

2.3.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Tissue Culture) การนำเอาชิ้นส่วนใดชิ้นส่วนหนึ่งของพืช ไม่ว่าจะเป็นอวัยวะ เนื้อเยื่อเซลล์หรือเซลล์ที่ไม่มีผนังที่เรียกว่า Protoplast มาเลี้ยงในอาหารวิทยาศาสตร์ซึ่ง

ประกอบด้วยแร่ธาตุ น้ำตาล วิตามิน และฮอร์โมนพืชในสภาพปลอดจุลินทรีย์ และอยู่ในสภาวะควบคุมสิ่งแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิ แสง ความชื้น (อรดี, 2539)

2.5 ประโยชน์ของพืชวงศ์ขิง

2.4.1 ใช้เป็นอาหาร เช่น นำขิงมาผัด หรือรับประทานสด ขิงมีฤทธิ์อุ่น ช่วยขับเหงื่อ ไล่ความเย็น ขับลม แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ ช่วยให้เจริญอาหาร และทำให้ร่างกายอบอุ่น ในทางยานิยมใช้ขิงแก่ เพราะขิงยิ่งแก่จะยิ่งเผ็ดร้อนและจะมีใยอาหารมาก รักษาอาการคลื่นไส้อาเจียน ไข้หวัด อาการไอ ขับเสมหะ อาการปวดประจำเดือน แผลที่เกิดจากไฟไหม้หรือถูกน้ำร้อนลวก อาการปวด ข่า ดอกและลำต้นอ่อนใช้รับประทานเป็นผักสด

2.4.2 ใช้เป็นเครื่องเทศ แต่งกลิ่น รสของอาหาร และเครื่องดื่ม เช่น ข่าเป็นเครื่องเทศที่ใช้แต่งกลิ่นอาหารและดับกลิ่นคาวพวกเนื้อสัตว์ต่างๆ เช่น ต้มยำปลา ข้าวต้มปลา ต้มข่าไก่ เป็นส่วนผสมในน้ำพริกเครื่องแกงต่างๆ นอกจากนี้ยังใช้เป็นส่วนผสมของลูกแป้งที่ใช้ทำข้าวหมากและเหล้า ดอกและลำต้นอ่อนใช้รับประทานเป็นผักสด

2.4.3 เป็นพืชสมุนไพร เช่น ขิงแก้ลมในท้องอืดแน่น ขมิ้นแก้โรคปวดท้องจากโรคกระเพาะ ไพลมีสรรพคุณบรรเทาอาการหอบหืด บรรเทาอาการอักเสบ ปวดบวม และบรรเทาอาการปวดกล้ามเนื้อ กระวานส่วนที่นำมาใช้ ลูก รสเผ็ดร้อนหอม ขับเสมหะ ขับลม ขับโลหิต บำรุงธาตุ กระจายเลือดและลมให้ซ่าน

2.4.4 ปลูกเป็นไม้ไม้ดอกไม้ประดับ เช่น มหาหงส์ ดาหลา ขิงแดง ใช้ปลูกประดับตามสวน

2.4.5 ปลูกเพื่อจำหน่าย เช่น ขิง ขมิ้น กระวาน ข่า (สุรพล, 2543)

2.6 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของตูบหมูบ (*Kaempferia marginata* Carey ex Roscoe.)

ตูบหมูบ (*Kaempferia marginata* Carey ex Roscoe.) มีชื่อเรียกอื่นอีก เช่น เปราะเถื่อน เสน่ห์จันทร์หอม (สุรพล, 2543) **ลำต้นเหนือดิน** สูง 3-7 ซม. กาบใบที่ไม่มีแผ่นใบ มี 3 ใบ ยาวประมาณ 3 ซม. **ใบ** มี 2 ใบ แผ่นใบ รูปกลม ยาว 8-16 ซม. กว้าง 6-12 ซม. ปลายใบแหลมหรือมีติ่งแหลม ฐานใบมนหรือรูปลิ่ม ขอบใบเรียบ สีม่วงแดง ผิวใบด้านบนเกลี้ยง ผิวใบด้านล่างสีม่วงแดง มีขนสั้นนุ่มสีขาวแบนราบแนบชิดพื้นดิน ก้านใบไม่มี กาบใบ ยาวประมาณ 5 ซม. ลิ้นใบ รูปสามเหลี่ยม ยาวประมาณ 4 มม. **ช่อดอก** เกิดที่ปลายยอดลำต้นเหนือดิน ยาว 5.5-6 ซม. กว้าง 1.3-1.6 ซม. ก้านช่อดอก ยาวประมาณ 1 ซม. **ใบประดับ** รูปหอก ยาว 3.5-3.8 ซม. กว้างประมาณ 1 ซม. ปลายเรียวแหลม ผิว

เกลี้ยง เนื้อบาง สีเขียว **ใบประดับย่อย** รูปแถบ ยาว 3-3.2 ซม. กว้างประมาณ 0.3 ซม. **ดอก** มี 6-8 ดอก สีขาว **หลอดกลีบเกลี้ยง** ยาว 2.5-3 ซม. **หลอดกลีบดอก** ยาว 3-4 ซม. แฉกบน รูปรีถึงรูปขอบขนาน ยาวประมาณ 2.5 ซม. กว้างประมาณ 0.5 ซม. ปลายรูปคุ่ม เรียวแหลม แฉกข้าง รูปรี ยาวประมาณ 2.5 ซม. กว้างประมาณ 0.3 ซม. ปลายมน **กลีบปาก** รูปไข่กลับ ยาว 3.5-4 ซม. กว้าง 3.5-3.7 ซม. ปลายมี 2 พูขนาดใกล้เคียงกัน รอยเว้าระหว่างพูลึกประมาณ 1.7 ซม. ปลายพูหยักมน ขอบสีขาว กลางกลีบปากมีสีม่วง **เกสรเพศผู้ที่เป็นหมัน** ยาว 2-3 ซม. กว้าง 1-1.5 ซม. ปลายค่อนข้างแหลม สีขาว **เกสรเพศผู้** ก้านเกสรเพศผู้ ยาวประมาณ 1 มม. กว้างประมาณ 5 มม. สันเหนืออับเรณูรูปกึ่งสี่เหลี่ยมจตุรัส ยาวประมาณ 5 มม. กว้างประมาณ 5 มม. สีขาว ปลายมน ปลายมี 2 พู รอยเว้าระหว่างพูลึก ประมาณ 5 มม. อับเรณู ยาวประมาณ 6 มม. กว้างประมาณ 4 มม. **เกสรเพศเมีย** รังไข่ยาว 2-3 มม. กว้าง 3-4 มม. ผิวเกลี้ยง ต่อมน้ำต้อย ไม่มี **ราก** รากสะสมอาหารคล้ายรากของกระชาย ปลายรากมีปมสะสมอาหารรูปรีหรือรูปไข่ เหง้าสั้น ขนาดเล็กเจริญไปทางด้านข้าง **ผล** รูปรี ยาวประมาณ 2.5 ซม. กว้างประมาณ 1.3 ซม. ผิวเกลี้ยง สีขาว ตรงปลายผลมีสีเขียว เมล็ด มีจำนวนมาก รูปรี สีน้ำตาลหรือสีเขียว มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาว

นิเวศวิทยา ป่าเต็งรัง ออกดอกต้นเดือนมิถุนายนถึงปลายสิงหาคม (สุรพล, 2543)

2.7 ลักษณะพฤกษศาสตร์ของกระเจียวขาว *(Curcuma parviflora)*

หัวรูปไข่ ขนาด 2 x 1.5 ซม. เหง้าแตกสาขา กว้าง 5-6 มม. ภายในมีสีขาว ลำต้นเหนือดินสูงประมาณ 50 ซม. ใบรูปรีแกมขอบขนาน ขนาด 19-34 x 6-8 ซม. สีเขียวตลอดแผ่นใบ ผิวใบด้านบนเกลี้ยง ด้านล่างมีขน ช่อดอกเกิดจากเหง้าและเกิดก่อนใบ ก้านช่อยาว 5-12 ซม. มีขนคลุมแน่น ช่อดอกยาวประมาณ 5 ซม. ใบประดับรูปรี ปลายเรียวแหลมและมักโค้งออก ผิวเกลี้ยงทั้ง 2 ด้าน มีสีขาว กลีบดอกและสเตมิโนดมีสีขาว สเตมิโนดรูปรี ปลายมน ด้านในมีขน กลีบปากรูปไข่กลับ ปลายนูนขึ้นและแยก 2 แฉก สีขาวและมีแถบสีเหลืองกลางแผ่น อับเรณูมีเดือยเป็นแท่ง ปลายมน ยาวประมาณ 5 มม. ชี้มาด้านหน้าเกือบตั้งฉากกับอับเรณู รังไข่ผิวเกลี้ยง ผลทรงไข่กลับขนาดประมาณ 15 x 8 มม. เมล็ดทรงรี ขนาด 4 x 1.5 มม. มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาว

การกระจายพันธุ์และนิเวศวิทยา ในประเทศไทย พบทางภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันออก ขึ้นในป่าผลัดใบที่ระดับความสูงจากระดับน้ำทะเลตั้งแต่ 80-1,300 ม. ออกดอกตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนมิถุนายน ต่างประเทศพบในประเทศลาว

ประโยชน์ ช่อดอกอ่อนใช้รับประทานเป็นผัก

กระเจียวชนิดนี้มีลักษณะเด่นที่สามารถจำแนกได้ง่ายคือ ดอกสีขาวมีแถบสีเหลืองแนวเส้นกลางกลีบปาก และเดือยอับเรณูขนาดใหญ่ (จรัญ และพวงเพ็ญ, 2555)

2.8 ลักษณะพฤกษศาสตร์ของกระเจียวขาว *(Curcuma singularis* Gagnep.**)**

เป็นพืชล้มลุกอายุหลายปี ส่วนเหนือดินสูงประมาณ 50 ซม. ทิ้งใบช่วงฤดูแล้ง ใบเดี่ยว รูปรีแกมขอบขนาน สีเขียวตลอดแผ่นใบ ผิวใบด้านบนเกลี้ยง ด้านล่างมีขน ช่อดอกเกิดจากเหง้าและเกิดก่อนใบ ใบประดับรูปรี ปลาเรียวแหลมและมักโค้งออก ผิวเกลี้ยงทั้ง 2 ด้าน มีสีขาว กลีบดอกและสเตมิโนดสีขาว สเตมิโนดรูปรี ปลายมน ด้านในมนีขน กลีบปากรูปไข่กลับ ปลายนูนขึ้นและแยก 2 แฉก สีขาวและมีแถบสีเหลืองกลางแผ่น อับเรณูมีเดือยเป็นแท่งปลายมน ชี้มาทางด้านหน้าเกือบตั้งฉากกับอับเรณู

การกระจายพันธุ์และนิเวศวิทยา

พบทางภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคตะวันออก ในป่าผลัดใบ ต่างประเทศพบในลาว

ประโยชน์ รับประทานช่อดอกอ่อนเป็นผัก (จรัญ, 2559)

2.9 ลักษณะพฤกษศาสตร์ของว่านชักมดลูก *(Curcuma zanthorrhiza* Roxb.**)**

เป็นพืชล้มลุกอายุหลายปี หัวรูปไข่ขนาด 10-12 x 6-8 ซม. เหง้าขนาดใหญ่ ภายในมีสีเหลืองเข้มหรือสีส้ม ลำต้นเหนือดินสูง 1-1.2 ม. ใบรูปใบหอก ขนาดประมาณ 65x 18 ซม. ผิวใบด้านล่างมีขนสั้นนุ่ม สีเขียว มีแถบสีม่วงแดงขนาบตามแนวสองข้างของเส้นกลางใบ ช่อดอกเกิดจากเหง้า ก้านยาวประมาณ 20 ซม. ช่อยาวประมาณ 30 ซม. ใบประดับส่วนล่างรูปไข่ ปลายมน มีสีเขียว อาจมีแต้มยสีม่วงตรงส่วนปลาย ใบประดับส่วนยอด สีชมพูเข้มหรือแดง ปลายแหลม กลีบดอกสีชมพูอมแดง สเตมิโนดรูปไข่กลับเบี้ยว ปลายมนหรือปลายตัด สีเหลืองอ่อน กลีบปาก ปลายแยก 3 พู ชัดเจน พูกลางเว้าตื้น สีเหลืองและเหลืองเข้มขึ้นบริเวณกลางแผ่น มีขนตามแนวแถบกลางแผ่นทั้ง 2 ด้าน อับเรณู มีเดือยปลายแหลม ชี้ลง ยาวประมาณ 3 มม. รังไข่ค่อนข้างกลม ขนาดยาวประมาณ 5 มม. มีขนคลุมแน่น

การกระจายพันธุ์และนิเวศวิทยา

เป็นพืชปลูกทั่วไป แทบทุกภาคของประเทศไทย ต่างประเทศพบเป็นพืชปลูกในอินเดีย พม่า จีน คาบสมุทรมาเลเซียและอินโดนีเซีย ไม่พบในธรรมชาติ

ประโยชน์ ลำต้นใต้ดินใช้เป็นสมุนไพร แก้มดลูกพิการ แก้ปวดมดลูก ชักมดลูกเข้าอู่หลังคลอดบุตร (จรัญ และพวงเพ็ญ, 2555)

2.10 ลักษณะพฤกษศาสตร์ของกระทือ *(Zingiber zerumbet* (L.) Roscoe ex Sm.**)**

เป็นพืชล้มลุกอายุหลายปี ไม้ล้มลุกมีเหง้า ด้านในสีเหลืองอ่อน มีกลิ่นหอมฉุน ลำต้นเทียมสูง 1-1.5 ม. ไม่ทิ้งใบ ใบเดี่ยว เรียงสลับระนาบเดียว รูปใบหอกกว้าง 2.5-6 ซม. ยาว 24-33 ซม. ปลายเรียวแหลม โคนสอบ ขอบเรียบ แผ่นใบเกือบเกลี้ยง หรือด้านล่างมีขนยาวห่าง ลิ้นใบบางคล้ายกระดาษ ยาว 1.75-2 ซม. กาบใบคล้ายเกล็ด สีเขียว ก้านช่อดอกตั้งตรง ช่อดอกแบบช่อเชิงลด ออกจากเหง้า รูปทรงกระบอกถึงรูปไข่ ปลายมน ใบประดับรูปไข่กลับเมื่ออ่อนสีเขียว เมื่อแก่สีแดง ขอบด้านบนนูน ปลายกลมกว้าง มีขนเล็กน้อย ใบประดับย่อยรูปแถบถึงรูปใบหอก ยาว 3-3.5 ซม. กลีบเลี้ยงเชื่อมติดกันเป็นหลอด ปลายแยก 1 ด้าน ยาวประมาณ 2 ซม. สีขาว ปลายหยักซี่ฟัน 3 ซี่ กลีบดอกเชื่อมติดกันเป็นหลอด ยาวประมาณ 5 ซม. สีเหลืองอ่อน ขอบหยักมน ปลายแยกเป็น 3 แฉก แฉกกลางรูปขอบขนาน ปลายเว้าลึก แฉกด้านข้างรูปไข่ เกสรเพศผู้เป็นหมัน ด้านข้างเชื่อมติดกับกลีบปาก เกสรเพศผู้ยาวประมาณ 1 ซม. อับเรณูสีเหลืองอ่อน แกนอับเรณูมีรยางค์คล้ายจงอยล้อมรอบก้านยอดเกสรเพศเมีย รังไข่อยู่ใต้วงกลีบ มี 3 ช่อง เกลี้ยง แต่ละช่องมีออวุลจำนวนมาก ผลแบบผลแห้งแตก รูปขอบขนาน ยาวประมาณ 1.5 ซม.

การกระจายพันธุ์และนิเวศวิทยา

พบในแถบเขตร้อนและกึ่งร้อนของเอเชีย ในประเทศไทยพบได้ทุกภาคของประเทศ ปลูกทั่วไปหรือพบตามชายป่าหรือพื้นที่รกร้างความสูงตั้งแต่ใกล้ระดับน้ำทะเลจนถึงประมาณ 1,200 ม. ออกดอกเดือนมิถุนายนถึงกันยายนเป็นผลเดือนตุลาคมถึงมกราคม

ประโยชน์ เหง้าเป็นยาบำรุงธาตุ ขับลม (สมราน, 2553)

2.11 เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับการขยายพันธุ์พืช

เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการขยายพันธุ์พืชที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ พืชหายากหรือพืชใกล้สูญพันธุ์ ให้ได้จำนวนมากในเวลารวดเร็ว และได้พืชที่มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนเดิม แต่การประสบความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นขึ้นกับชนิดพืช สูตรอาหารที่เหมาะสมและสภาวะในการเพาะเลี้ยง ดังนั้นจึงจำเป็นที่ต้องทราบเบื้องต้นว่า สภาพในการเพาะเลี้ยงและสูตรอาหารใดที่เหมาะสมในเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแต่ละชนิดให้ได้จำนวนมาก มีการศึกษาปัจจัย

ต่างๆที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยง โดย Skoog and Miller (1957) พบว่า ความสมดุลของฮอร์โมนระหว่างออกซินและไซโตไคนินมีผลต่อการเจริญเติบและการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อไปเป็นต้นหรือราก ปัจจุบันฮอร์โมนพืชจึงเข้ามามีบทบาทที่สำคัญต่อการประสบความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีรายงานการประสบความสำเร็จมากมายเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชวงศ์ขิง เช่น Sharma and Singh (1995); Khatun et al. (2003) ส่วนในสกุลขมิ้น (Curcuma) มีรายงานการผลของแสง น้ำตาล ฮอร์โมน ต่อการชักนำพืชสกุลนี้ให้เกิดแคลลัสและเกิดเป็นต้นใหม่ (Nayak, 2000; Prathanturang et al., 2003; สุพัตรา และกอบเกียรติ, 2548) อนุพันธ์ และพันธิตรา (2549) พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 mg/ml สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากสุด และสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.0 mg/ml ชักนำให้เกิดรากได้สูงสุด

2.12 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุลเปราะ *(Kaempferia)*

Chirangini et al. (2005) ศึกษาการขยายพันธุ์ *Kaempferia galanga* L. และ *K. rotunda* L. ในหลอดทดลอง โดยใช้ตาเหง้านำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IAA, NAA, 2,4-D, Kinetin, BAP, IAA ร่วมกับ Kinetin และ NAA ร่วมกับ BAP ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน พบว่าตาเหง้าของ *K. galanga* L. ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน IAA 5.70 ไมโครโมล และเติมฮอร์โมน IAA 0.57 ไมโครโมล ร่วมกับ Kinetin 4.65 ไมโครโมล พบว่ามีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 3.67±0.42 ยอด/ชิ้นส่วน และตาเหง้า *K. rotunda* L. ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA 2.69 ไมโครโมล ร่วมกับ BAP 2.22 ไมโครโมล พบว่ามีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 6.10±0.34 ยอด/ชิ้นส่วน เมื่อย้ายต้นอ่อน *K. galanga* L. มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP 4.44 ไมโครโมล พบว่าเกิดยอดเพิ่มขึ้นจำนวน 13 ยอด และเมื่อย้ายต้นอ่อน *K. rotunda* L. มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA 2.69 ไมโครโมล ร่วมกับ BAP 2.22 ไมโครโมล พบว่าเกิดยอดเพิ่มขึ้นจำนวน 9 ยอด เมื่อนำเหง้า *K. galanga* L. มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IAA 2.85 ไมโครโมล พบว่าเหง้าที่เพาะเลี้ยงพัฒนาเป็นแคลลัส เมื่อย้ายแคลลัสมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมฮอร์โมน NAA 2.69 ไมโครโมล และ BAP 2.22 ไมโครโมล พบว่าแคลลัสพัฒนาเกิดเป็นต้นอ่อน ต้นกล้าที่มีอายุ 3 เดือน เมื่อย้ายลงปลูกในกระถางพลาสติกที่มีส่วนผสมของดิน และปุ๋ยคอก พบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 80-90%

Chithra et al. (2005) ศึกษาวิธีการขยายพันธุ์ *K. galanga* L. ในหลอดทดลอง โดยใช้ส่วนของเหง้าที่ยังไม่แก่ นำไปผ่านน้ำไหล ล้างด้วยผงซักฟอก 5 นาที ล้างน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ฆ่าเชื้ออีกครั้งด้วย $HgCl_2$ 0.1% เป็นเวลา 10-12 นาที ล้างต่อด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 5

นาที ตัดให้ได้ขนาดพอเหมาะ นำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA, Kinetin, IAA, NAA, BA ร่วมกับ IBA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน พบว่าเหง้าที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 8.87 ไมโครโมล ร่วมกับ IBA 2.46 ไมโครโมล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดมากที่สุด 90% จำนวนยอดเฉลี่ย 6.2 ยอด/ชิ้นส่วน เมื่อย้ายยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเหง้ามาเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมฮอร์โมน BA, IBA และ silver nitrate ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน พบว่ามีจำนวนยอดเฉลี่ย 12.1 ยอด/ชิ้นส่วน

Kalpana and Anbazhan (2009) ศึกษาการขยายพันธุ์ *K. galanga* L. ในหลอดทดลองด้วยการเพาะเลี้ยงตาเหง้า นำตาเหง้ามาผ่านน้ำไหล 30 นาที ล้างฆ่าเชื้อด้วยเดทตอล 5% เป็นเวลา 10 นาที นำไปแช่ในเอทานอล 70% เป็นเวลา 2 วินาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 5 ครั้ง นำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 5% เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 5 ครั้ง ตัดให้ได้ขนาดพอเหมาะ นำตาเหง้าไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA, BA ร่วมกับ NAA, BA ร่วมกับ IBA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน พบว่าตาเหง้าที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 2.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.2 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดมากที่สุด 85% นำต้นกล้าที่มียอดและรากแข็งแรงย้ายลงปลูกในกระถางพลาสติกที่มีส่วนผสมของดินปลูก ทราย และเวอร์มิคูเลต (vermiculate) (อัตราส่วน 1:1:1) พบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 81%

Kochuthressia et al. (2012) ศึกษาการเพิ่มจำนวน *K. galanga* L. ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้ส่วนของเหง้า อายุ 2 เดือน นำมาผ่านน้ำไหล 20 นาที แช่ในผงซักฟอก 5 นาที จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเอทานอล 70% เป็นเวลา 1 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ ฆ่าเชื้ออีกครั้งด้วย $HgCl_2$ ความเข้มข้น 0.1% เป็นเวลา 5 นาที ล้างต่อด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 5 นาที ตัดให้ได้ขนาดพอเหมาะนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP, Kinetin และ BAP ร่วมกับ Kinetin ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน พบว่าตาเหง้าที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 2.0 มก/ล ร่วมกับ Kinetin 1.0 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดมากที่สุด 85.7% นำต้นกล้าที่มียอดและรากแข็งแรง ย้ายมาปลูกในถ้วยพลาสติกที่มีส่วนผสมของดิน ทราย และ ปุ๋ยคอก (อัตราส่วน 1:1:2) พบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 100%

Parida et al. (2010) ศึกษาการเพิ่มจำนวน *K. galanga* L. ในหลอดทดลองด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้ส่วนของเหง้า นำเหง้ามาผ่านน้ำไหล ล้างด้วยผงซักฟอก 3-5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ฆ่าเชื้อด้วย $HgCl_2$ 0.1% ในตู้ปลอดเชื้อ เป็นเวลา 8-10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3-4 นาที นำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA, BA ร่วมกับ IAA, BA ร่วมกับ IBA, BA ร่วมกับ NAA และ BA ร่วมกับ IAA ร่วมกับ Ads (adenine sulphates) ที่ความเข้มข้น

แตกต่างกัน พบว่าเหง้าที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 1 มก/ล ร่วมกับ IAA 0.5 มก/ล มีอัตราการเกิดยอดสูงสุด 11.5±0.6 หน่อ/ชิ้นส่วน ความยาวยอดเฉลี่ย 10.8±0.6 ยอด/ชิ้นส่วน นำต้นกล้าที่มียอดและรากแข็งแรง ไปปรับสภาพในเรือนกระจก เป็นเวลา 30 วัน ย้ายปลูกในกระถางที่มีส่วนผสมของดิน ทราย และปุ๋ยคอก (อัตราส่วน 1:1:1) พบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 95%

Rahman et al. (2004) ศึกษาการเพาะเลี้ยงโคนใบของ *K. galanga* L. เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส และชักนำแคลลัสให้เกิดโซมาติกเอ็มบริโอ โดยนำโคนใบมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน 2,4-D, 2,4-D ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน เพาะเลี้ยง 7 สัปดาห์ พบว่าโคนใบที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1.5 มก/ล ร่วมกับ BA 1.0 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากที่สุด 85% เมื่อย้ายแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโคนใบมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ร่วมกับ NAA และ BA ร่วมกับ IBA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน เพาะเลี้ยง 10 สัปดาห์ พบว่าแคลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 2.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 1.0 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโซมาติกเอ็มบริโอมากที่สุด 75% และมีจำนวนโซมาติกเอ็มบริโอมากที่สุด 35.4 โซมาติกเอ็มบริโอ เมื่อนำต้นกล้าที่มียอดและรากสมบูรณ์ แข็งแรง ย้ายออกปลูกในกระถางพลาสติกที่มีส่วนผสมของดินปลูก ทราย และปุ๋ยหมัก (อัตราส่วน 2:2:1) มีอัตราการรอดชีวิต 85%

Rahman et al. (2005) ศึกษาการขยายพันธุ์ *K. galanga* L. ในหลอดทดลอง โดยใช้ส่วนของเหง้าที่เจริญเต็มที่ มาผ่านน้ำไหล 20 นาที ฆ่าเชื้อในตู้ปลอดเชื้อด้วย mercuric chloride ($HgCl_2$) 12 นาที ล้างต่อด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นำเหง้าไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA, BA ร่วมกับ NAA และ BA ร่วมกับ IBA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน เพาะเลี้ยง 3 สัปดาห์ พบว่าเหง้าที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 1.0 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.1 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดมากที่สุด 100% จำนวนยอดเฉลี่ย 20.50±1.80 ยอด/ชิ้นส่วน ย้ายยอดขนาดเล็กที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเหง้าไปเพาะเลี้ยงในอาหาร MMS_2 ที่เติมฮอร์โมน NAA, IBA และ IAA ที่ความเข้มข้นต่างกัน พบว่ายอดขนาดเล็กที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมฮอร์โมน IBA 0.2 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากที่สุด 100% จำนวนรากเฉลี่ย 12.4±1.23 ราก/ชิ้นส่วน นำต้นกล้าที่มียอดและรากแข็งแรง ย้ายลงปลูกในกระถางพลาสติกที่ส่วนผสมของดิน ทราย และปุ๋ยหมัก (อัตราส่วน 2:2:1) มีอัตราการรอดชีวิต 85%

2.13 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุลขมิ้น (*Curcuma*)

Nayak (2000) ศึกษาการเพิ่มจำนวนยอดและการเกิดเป็นต้นใหม่ของว่านนางคำ (*Curcuma aromatic* Salisb.) จากการเพาะเลี้ยงยอดที่งอกใหม่ในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับ

ความเข้มข้น 1-7 มก/ล เพียงอย่างเดียว หรือเติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 1-5 มก/ล ร่วมกับฮอร์โมน Kinetin ที่ระดับความเข้มข้น 0.5-1 มก/ล พบว่า ยอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 5 มก/ล ชักนำให้ยอดเพิ่มจำนวนมากที่สุด 3.3 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และเกิดรากร่วมด้วย

Prathanturarug et al. (2003) ศึกษาการเพิ่มจำนวนยอดของขมิ้นชัน (*C. longa* L.) พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงตายอด (terminal bud) ในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 18.17 µM เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จะชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 2.22 ยอด/ชิ้นส่วนพืช จากนั้นย้ายไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 8 สัปดาห์ สามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 7.12 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ มียอดจำนวนเฉลี่ย 18.22 ยอด/ชิ้นส่วนพืช

Prakash et al. (2004) ศึกษาการเกิดต้นใหม่ของขมิ้นขาวป่า (*C. amada* Roxb.) พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงตาเหง้า (rhizome bud) ในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP ที่ระดับความเข้มข้น 4.44 µM และฮอร์โมน NAA ที่ระดับความเข้มข้น 1.08 µM จะชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด จำนวน 16.4 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และเพาะเลี้ยงกาบใบ (leaf sheath) เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส ในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน 2,4-D ที่ระดับความเข้มข้น 9.0 µM พบว่าสามารถชักนำกาบใบให้เกิดแคลลัสได้ 75% เป็นแคลลัสแบบเกาะกันกึ่งหลวม (semi-friable callus) จากนั้นย้ายแคลลัสไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP ที่ระดับความเข้มข้น 8.88 µM และฮอร์โมน NAA ที่ระดับความเข้มข้น 2.7 µM สามารถชักนำแคลลัสให้เกิดยอดประมาณ 8 ยอด/ชิ้นแคลลัส

Bharalee et al. (2005) ศึกษาการขยายพันธุ์ขมิ้นม่วง (*C. caesia* Roxb.) และขมิ้นอ้อย พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงตาเหง้าขมิ้นม่วง ในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP ที่ระดับความเข้มข้น 4 มก/ล และฮอร์โมน NAA ที่ระดับความเข้มข้น 1.5 มก/ล จะชักนำให้ยอดเพิ่มจำนวนมากที่สุด 3.5 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และเพาะเลี้ยงขมิ้นอ้อยในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP ที่ระดับความเข้มข้น 1 มก/ล ร่วมกับฮอร์โมน NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มก/ล จะชักนำให้ยอดเพิ่มจำนวนมากที่สุด 4.5 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และเมื่อเพาะเลี้ยงขมิ้นม่วงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน IAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มก/ล จะชักนำให้เกิดรากมากที่สุด 9.2 ราก/ชิ้นส่วนพืช และ 8.9 ราก/ชิ้นส่วนพืช ในขมิ้นอ้อย

Loc et al. (2005) ศึกษาการขยายพันธุ์ขมิ้นอ้อย ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากตาเหง้าที่งอกใหม่ (rhizome sprout) โดยชักนำให้เกิดยอดจากตาเหง้าในอาหารสูตร MS ที่มีน้ำตาลซูโครส 20 ก/ล วุ้น 5 ก/ล เติมน้ำมะพร้าว 20% และฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5-5 มก/ล ตัดยอดไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ร่วมกับน้ำมะพร้าว 20% และเติมฮอร์โมน BA และ Kinetin ที่ระดับ

ความเข้มข้นต่างกันเพียงอย่างเดียวหรือที่เติมร่วมกับฮอร์โมน IBA หรือ NAA พบว่า อัตราการเพิ่มจำนวนยอดเฉลี่ย 5.6 ยอด/ชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ร่วมกับน้ำมะพร้าว 20% ฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 3 มก/ล และฮอร์โมน IBA ความเข้มข้น 0.5 มก/ล เป็นเวลา 30 วัน

Prathanturarug et al. (2005) ศึกษาการเพิ่มจำนวนยอดของขมิ้นชัน โดยการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนตา (bud explants) พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนตาเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 72.64 µM ก่อนนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 8 สัปดาห์ มีอัตราการเกิดต้นใหม่เพิ่มขึ้นเป็น 11.4 ยอด/ชิ้นส่วนพืช

Shukla et al. (2007) ศึกษาการขยายพันธุ์อาวแดง (*C. angustifolia* Roxb.) ในหลอดทดลอง โดยเพาะเลี้ยงตาเหง้าในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP ที่ระดับความเข้มข้น 3 มก/ล พบว่า มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.87 ยอด/ชิ้นส่วนพืช จากนั้นย้ายชิ้นส่วนยอดที่ได้ไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP ที่ระดับความเข้มข้น 3 มก/ล ร่วมกับ adenine sulfate 25 มก/ล เพื่อชักนำให้ยอดเพิ่มจำนวน มีจำนวนยอดเฉลี่ย 6.9 ยอด/ชิ้นส่วนพืช

Stanly and Chan (2007) ศึกษาการขยายพันธุ์ *C. zedoaria* Roscoe และ *Z. zerumbet* Smith จากต้นอ่อนที่ปลอดเชื้อในหลอดทดลอง นำต้นอ่อน *C. zedoaria* Roscoe และ *Z. zerumbet* Smith มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ร่วมกับ IBA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อน *C. zedoaria* Roscoe ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 0.5 มก/ล ร่วมกับ IBA 0.5 มก/ล ชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด 2.3 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และต้นอ่อน *Z. zerumbet* Smith ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 0.5 มก/ล ร่วมกับ IBA 0.5 มก/ล ชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด 3.9 ยอด/ชิ้นส่วนพืช

Theanphong et al. (2010) ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตในการขยายพันธุ์ว่านมหาเมฆ (*C. aeruginosa* Roxb.) โดยเพาะเลี้ยงตาเหง้าในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA หรือ Kinetin ที่ระดับความเข้มข้น 1, 3, 5 และ 7 มก/ล โดยเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 1, 3, 5 และ 7 มก/ล ร่วมกับฮอร์โมน NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มก/ล และเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน Kinetin ที่ระดับความเข้มข้น 1, 3, 5 และ 7 มก/ล ร่วมกับฮอร์โมน NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มก/ล เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 1 มก/ล ร่วมกับฮอร์โมน NAA ที่ระดับความ

เข้มข้น 0.5 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดรากมากที่สุด 10 ราก/ชิ้นส่วนพืช และสามารถชักนำให้เกิดยอด 1.29 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความสูงของยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 3.56 ซม.

Raihana et al. (2011) ศึกษาการเพาะเลี้ยงตาเหง้าขมิ้นขาว (*C. mangga* Val.) ในหลอดทดลอง โดยเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP, IAA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงตาเหง้าในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP ที่ระดับความเข้มข้น 9 มก/ล เหมาะสมในการชักนำให้ยอดเพิ่มจำนวน ในขณะที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA ที่ระดับความเข้มข้น 1 มก/ล ให้จำนวนรากสูงสุด จากนั้นนำชิ้นส่วนพืชมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP และฮอร์โมน NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP 3 มก/ล ร่วมกับฮอร์โมน NAA 1 มก/ล ชักนำให้ยอดเพิ่มจำนวนมากที่สุด 2.2 ยอด/ชิ้นส่วนพืช

Zhang et al. (2011) ศึกษาการเกิดต้นใหม่ของ *C. soloensis* Val. จากตาเหง้าที่งอกใหม่ โดยชักนำให้เกิดยอดโดยตรงและการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนแคลลัส พบว่าการชักนำให้เกิดยอดโดยตรง เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 µM ทำให้เกิดยอดจำนวนมากกว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมฮอร์โมน BA ถึง 3 เท่า มีจำนวนยอดเฉลี่ย 18.7 ยอด/ชิ้นส่วนพืช เมื่อเทียบกับการเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 40 µM มีจำนวนยอดเฉลี่ย 5 ยอด/ชิ้นส่วนพืช จากนั้นย้ายชิ้นส่วนยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 µM ไปเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อปรับสภาพ การชักนำให้เกิดยอดจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของแคลลัส เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมฮอร์โมน TDZ ความเข้มข้น 2.5 µM ร่วมกับฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 2 µM และฮอร์โมน 2,4-D 1.2 µM มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสเฉลี่ย 91.1% และเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ 2.5 µM ร่วมกับฮอร์โมน BA 9 µM และฮอร์โมน NAA 1.2 µM ชักนำแคลลัสให้เกิดยอดเฉลี่ย 7.1 ยอด/แคลลัส ยอดที่เกิดใหม่เมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารที่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 µM ชักนำให้ยอดเพิ่มจำนวนมากขึ้น

Chong et al. (2012) ศึกษาผลของวิธีการเพาะเลี้ยงและการผ่าชิ้นส่วนพืชในการขยายพันธุ์ขมิ้นอ้อยในหลอดทดลอง นำยอดขมิ้นอ้อยในสภาพปลอดเชื้อมาผ่าตามยาวและไม่ผ่าตามยาว นำมาเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ที่มีอาหารแข็งและอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 0.5 มก/ล ร่วมกับฮอร์โมน IBA 0.5 มก/ล พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว มีอัตราการเกิดยอดเฉลี่ย 2.2 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ซึ่งมีจำนวนมากกว่าเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง โดยมีอัตราการเกิดยอด 1.7 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และการ

เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวมีขนาดของยอดใหญ่กว่าและมีน้ำหนักสดมากกว่าเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง หลังจากเพาะเลี้ยง 3 สัปดาห์ ยอดขมิ้นอ้อยที่ผ่าตามยาว มีอัตราการเกิดยอด 3.6 ยอด/ครึ่งชีกของยอด และเกิดยอดเฉลี่ย 7.0 ยอด/ชิ้นส่วนพืช สำหรับยอดขมิ้นอ้อยที่ไม่ผ่าตามยาว มีอัตราการเกิดยอดเฉลี่ย 4.2 ยอด/ชิ้นส่วนพืช

Ferdous et al. (2012) ศึกษาการขยายพันธุ์ขมิ้นขาวป่าจากชิ้นส่วนตายอดและตาเหง้าในหลอดทดลอง นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA หรือฮอร์โมน Kinetin ที่ระดับความเข้มข้น 0, 2, 4, 6, 8 และ 10 µM เพียงอย่างเดียวหรือร่วมกับฮอร์โมน NAA และฮอร์โมน IBA ความเข้มข้น 1, 1.5 และ 2 µM พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 8 µM ร่วมกับฮอร์โมน NAA 1 µM ชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด 10 ยอด/ชิ้นส่วนพืช หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

Rahayu and Adil (2012) ศึกษาการเพาะเลี้ยงตาเหง้าว่านชักมดลูก (*C. xanthorrhiza* Roxb.) ในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 5 และ 7 มก/ล ที่มีและไม่มีฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มก/ล พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP ที่ระดับความเข้มข้น 5 มก/ล ชักนำให้เกิดยอดและรากมากที่สุด

2.14 พืชวงศ์ขิงกับคุณค่าทางโภชนาการและสารต้านอนุมูลอิสระ

ปัจจุบัน กระแสในเรื่องความห่วงใยสุขภาพ การป้องกัน และรักษาอาการเจ็บป่วยกำลังเป็นสิ่งที่ผู้บริโภคให้ความสนใจเป็นอย่างมาก ผู้บริโภคในหลายๆ ประเทศทั่วโลกได้ให้ความสนใจในการนาสมุนไพรและผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรมารับประทานหรือเพื่อใช้บารุงรักษาสุขภาพ พืชหลายชนิดในวงศ์ขิง เช่น สกุลขิง (Genus Zingiber) เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจสกุลหนึ่งที่มีการใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในด้านสมุนไพร และเครื่องเทศ โดยเฉพาะขิง (*Z. officinale*) ไพล (*Z. montanum*) และกระทือ (*Z. zerumbet*) (พิทยา, 2551) ในหลายงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ได้พิสูจน์ว่า สารต้านอนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในการลดความเสี่ยงจากการเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง และโรคหัวใจ (Chew et al., 2008) สารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่จะอยู่ในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก เช่น เคอร์คูมินอยด์ (Curcuminoid) เป็นต้น การพัฒนาพืชสมุนไพรให้ได้มาตรฐานจึงเป็นสิ่งจำเป็นในการผลิตพืชสมุนไพรให้มีคุณภาพ โดยประเด็นที่สำคัญคือ สมุนไพรจะต้องมีปริมาณสารสำคัญสูง แต่ทว่าประเทศไทยมีพืชวงศ์ขิงอยู่หลายชนิด แต่ยังขาดข้อมูลพื้นฐานทางด้านการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นจึง

ควรมีการวิจัยเพื่อให้ได้ข้อมูลเบื้องต้นเพื่อบ่งชี้ถึงศักยภาพของพืชวงศ์ขิง โดยเฉพาะสกุลขิงชนิดต่างๆ ที่พบในประเทศไทย

2.15 ความแปรปรวนทางพันธุกรรมกับเทคนิคอาร์เอพีดี

Random amplified polymorphic DNA (RAPD) เป็นเทคนิคที่ใช้ในปฏิกิริยา Polymerase Chain Reaction (PCR) โดยอาศัยการสุ่มจับของไพรเมอร์ (random primer) เพื่อเพิ่มปริมาณ deoxyribonucleic acid (DNA) และใช้หลักการที่ว่าดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะมีความแตกต่างกันในการเรียงลำดับเบส ได้แก่ Adenosine(A), Thymine (T), Guanine (G) และ Cytosine (C) ที่มีการสุ่มเอาตัวแทนบริเวณใดบริเวณหนึ่งบนสายดีเอ็นเอมาเพิ่มปริมาณเช่นเดียวกับขบวนการ DNA replication ภายในเซลล์ จากนั้นนำดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณแล้วมาแยกโดยวิธี เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส (gel electrophoresis) และนำแผ่นเจลที่ได้มาตรวจสอบความแตกต่างของลายพิมพ์ดีเอ็นเอ (DNA fingerprinting) ดังนั้น สิ่งมีชีวิตที่มีความใกล้ชิดกันมากจะมีลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่คล้ายคลึงกัน เครื่องหมาย RAPD ได้ถูกนำมาใช้ในการจำแนกชนิด สร้างความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างสายพันธุ์ (Rout et al., 1998)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 พืชที่ใช้ในการทำวิจัย

ตัวอย่างพืชที่ใช้ในการทำวิจัยมี 4 ชนิด ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 พืชที่ใช้ในการทำวิจัย

ลำดับที่	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อสามัญ	สถานที่เก็บ
1	*Keampferia marginata* Carey.	ตูบหมูบ/เปราะเถื่อน	มหาสารคาม/ นครราชสีมา
2	*Curcuma parviflora* Wall.	กระเจียวขาว	มหาสารคาม/ นครราชสีมา
3	*Curcuma singularis* Gagnep.	กระเจียวขาว	นครราชสีมา/บุรีรัมย์
4	*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.	ว่านชักมดลูก	นครราชสีมา
5	*Zingiber zerumbet* (L.) Smith.	กระทือ	นครราชสีมา/บุรีรัมย์

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.2.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตูบหมูบ *Keampferia marginata* Carey.

1. การเตรียมอาหาร

อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คือ อาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ซึ่งประกอบด้วยธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง เหล็ก วิตามิน ร่วมกับฮอร์โมนพืช น้ำตาลซูโครส 30 กรัม/ลิตร ปรับปริมาตร จากนั้นนำไปปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.7-5.8 ด้วย 1 N NaOH หรือ 1 N HCl เติมวุ้น 7 กรัม/ลิตร นำไปต้มวุ้นให้ละลาย เมื่อวุ้นละลาย นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เวลา 15 นาที รอให้อาหารแข็ง แล้วนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อไป

2. ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตูบหมูบ

การทดลองที่ 1 ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการฟอกฆ่าเชื้อเหง้า โดยนำเหง้ามาทำความสะอาดผ่านน้ำ 20 นาที ล้างด้วยผงซักฟอก 10 นาที ล้างอีกครั้งด้วยน้ำสะอาด 10 นาที นำมาฉีดพ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70% ย้ายเหง้ามาฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่าง

กัน หยด tween 20 ประมาณ 2-3 หยด จากนั้นล้างน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที แล้วนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA 0.2 มก/ล ร่วมกับ BA 2.0 มก/ล นำไปวางบนชั้นเพาะเลี้ยง ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมง/วัน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อ จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของฮอร์โมน BA ร่วมกับ Kinetin ต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดแคลลัส ต้นและราก โดยใช้ต้นอ่อนที่ปลอดเชื้อในหลอดทดลอง ขนาดประมาณ 1 ซม. แล้วนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 2 มก/ล ร่วมกับ Kinetin ที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1, 1.5, 2 และ 2.5 มก/ล ทำการทดลอง 10 ซ้ำ นำไปวางบนชั้นเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมง/วัน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโต จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และ ความยาวรากเฉลี่ย

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของฮอร์โมน BA ร่วมกับ TDZ ต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดแคลลัส ต้นและราก โดยใช้โคนต้นของตูบหมูบที่ปลอดเชื้อในหลอดทดลอง ขนาดประมาณ 1 ซม. แล้วนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 2 มก/ล ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 และ 4 มก/ล ทำการทดลอง 10 ซ้ำ นำไปวางบนชั้นเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโต จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และ ความยาวรากเฉลี่ย

การทดลองที่ 4 ศึกษาผลของฮอร์โมน TDZ ต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดแคลลัส ต้นและรากโดยใช้ต้นอ่อนที่ปลอดเชื้อในหลอดทดลอง ขนาดประมาณ 1 ซม. แล้วนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 และ 1 มก/ล ทำการทดลอง 10 ซ้ำ นำไปวางบนชั้นเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมง/วัน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโต จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และ ความยาวรากเฉลี่ย

3.2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระเจียวขาว *Curcuma parviflora* Wall.

การทดลองที่ 1 การเปรียบเทียบวิธีการฟอกฆ่าเชื้อตาเหง้ากระเจียวขาว

นำตาเหง้ากระเจียวขาวที่ได้จากสภาพธรรมชาติและตาเหง้ากระเจียวขาวที่เกิดยอดใหม่เป็นเวลา 4 สัปดาห์ มาล้างด้วยน้ำประปาไหลผ่านเป็นเวลา 30 นาที ล้างด้วยซันไลต์ ใช้พู่กันปัดเศษดินหรือสิ่งสกปรกออกและล้างน้ำให้สะอาด จากนั้นนำไปฉีดพ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 1 นาที นำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (clorox) เข้มข้น 10%, 15%, 20% และ 25% ระยะเวลา 10, 15, 20 และ 30 นาที หยด Tween 20 ลงไป 1-2 หยด เขย่าเป็นครั้งคราว จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 10% และ 15% ระยะเวลา 10 และ 20 นาที ตามลำดับ ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 5 ครั้ง จากนั้นตัดตาเหง้าให้มีขนาดประมาณ 0.5x0.5 นำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 2 มก/ล ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.2 มก/ล ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ

จากนั้นทำการย้ายเนื้อเยื่อไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 2 มก/ล เพื่อเพิ่มจำนวนยอด เมื่อได้ต้นอ่อนจำนวนมากพอนำมาปรับสภาพในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ หลังจากนั้นนำไปใช้ทำการทดลองที่ 2 ต่อไป

การทดลองที่ 2 ผลของฮอร์โมน TDZ และ NAA ในการเพิ่มจำนวนยอดและรากของกระเจียวขาว

นำหน่ออ่อนกระเจียวขาวขนาด 1 ซม. ไม่มีราก ที่อยู่ในขวดเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 0.1 มก/ล ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 4 และ 8 มก/ล เพาะเลี้ยงความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกลักษณะการเจริญเติบโต จำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนราก และความยาวราก

การทดลองที่ 3 ผลของชนิดอาหารต่อการเพิ่มจำนวนยอดและรากของกระเจียวขาว

นำหน่ออ่อนกระเจียวขาวขนาด 1 ซม. ไม่มีราก ที่อยู่ในขวดเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อมาผ่าตามยาวและไม่ผ่าตามยาว นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวและอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มก/ล ร่วมกับ IBA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มก/ล เพาะเลี้ยงวิธีละ 9 ซ้ำ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกลักษณะการเจริญเติบโต จำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนราก และความยาวราก

3.2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระเจียวขาว *Curcuma singularis* Gagnep.

3.2.3.1 การชักนำให้เกิดยอด

นำเหง้าของกระเจียวขาวมาล้างทำความสะอาดเศษดินและสิ่งสกปรกต่างๆ ออกโดยใช้น้ำยาทีโพ จากนั้นล้างโดยปล่อยให้น้ำไหลผ่านเป็นเวลา 30 นาที นำเข้าตู้ปลอดเชื้อ นำเหง้าที่ได้มาแช่ใน

แอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 1 นาที และฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอร็อกเข้มข้น 20% และ 15% หยด tween 20 1-2 หยด เป็นเวลา 15 และ 10 นาที ตามลำดับ จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที จากนั้นนำเหง้าที่ได้มาตัดเอาเฉพาะส่วนของตาเหง้าให้มีขนาดเท่าๆ กัน ประมาณ 0.5x0.5 ซม. นำมาวางบนอาหารสูตร MS ร่วมกับฮอร์โมน BA 2 มก/ล ทำการทดลองสูตรละ 30 ซ้ำ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

นำยอดอ่อนของกระเจียวขาวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในครั้งแรกมาเพิ่มจำนวนยอดด้วยอาหารสูตร MS ร่วมกับฮอร์โมน BA (4 มก/ล) และฮอร์โมน NAA (0.5 มก/ล) เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นนำยอดอ่อนที่มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับฮอร์โมน BA (2 มก/ล) NAA (0.5 มก/ล) และ TDZ (2 มก/ล) ทำการทดลองสูตรละ 30 ซ้ำ

3.2.3.2 การชักนำราก

นำต้นพืชวงศ์ขิงที่ได้จากการชักนำให้เกิดยอดจากข้างต้นมาชักนำให้เกิดรากด้วยอาหารสูตร MS ร่วมกับฮอร์โมน IBA (0, 0.2, 0.5, 1 มก/ล) ทำการทดลองสูตรละ 30 ซ้ำ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

3.2.3.3 การปรับสภาพและการนำออกปลูก

นำต้นพืชที่ได้จากห้องเพาะเลี้ยงวางที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นนำต้นพืชมาล้างวุ้นออกให้หมด แช่รากพืชด้วยยาฆ่าเชื้อรานาน 5 นาที จากนั้นนำต้นพืชที่ได้ปลูกลงในแผงเพาะกล้าไม้ด้วยดินผสมแกลบเผา ใช้ถุงพลาสติกคลุมแผงเพาะกล้าไม้ทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ จากนั้นนำต้นพืชปลูกลงในกระถางที่มีดินผสมวัสดุปลูกชนิดต่างๆ ใช้ถุงพลาสติกครอบกระถางไว้ 1 สัปดาห์ โดยในระหว่างนี้ควรใช้เข็มเจาะถุงพลาสติกให้เป็นรูเพื่อลดความชื้นไปด้วย จากนั้นนำถุงพลาสติกออก รดน้ำตามปกติ เก็บผลการทดลองเมื่อครบ 4 สัปดาห์และ 8 สัปดาห์

3.2.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านชักมดลูก *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.

3.2.4.1 การชักนำให้เกิดยอด

นำยอดอ่อนของว่านชักมดลูกที่เกิดจากเหง้ามาล้างด้วยน้ำยาทีโพ จากนั้นล้างโดยปล่อยให้น้ำไหลผ่านเป็นเวลา 30 นาที นำเข้าตู้ปลอดเชื้อ นำเหง้าที่ได้มาแช่ในแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 1 นาที และฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอร็อกเข้มข้น 15% และ 10% หยด tween 20 1-2 หยด เป็นเวลา 15 และ 10 นาที ตามลำดับ จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที จากนั้นนำเหง้าที่ได้มาตัด

เอาเฉพาะส่วนของตาเหง้าให้มีขนาดเท่าๆ กัน ประมาณ 0.5x0.5 ซม. นำมาวางบนอาหารสูตร MS ร่วมกับฮอร์โมน BA 2 มก/ล ทำการทดลอง 30 ซ้ำ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

3.2.4.2 การชักนำราก

นำต้นพืชวงศ์ขิงที่ได้จากการชักนำให้เกิดยอดจากข้างต้นมาชักนำให้เกิดรากด้วยอาหารสูตร MS ร่วมกับฮอร์โมน IBA (0, 0.2, 0.5, 1 มก/ล) ทำการทดลองสูตรละ 30 ซ้ำ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

3.2.4.3 การปรับสภาพและการนำออกปลูก

นำต้นพืชที่ได้จากห้องเพาะเลี้ยงวางที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นนำต้นพืชมาล้างวุ้นออกให้หมด แช่รากพืชด้วยยาฆ่าเชื้อรานาน 5 นาที จากนั้นนำต้นพืชที่ได้ปลูกลงในแผงเพาะกล้าไม้ด้วยดินผสมแกลบเผา ใช้ถุงพลาสติกคลุมแผงเพาะกล้าไม้ทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ จากนั้นนำต้นพืชปลูกลงในกระถางที่มีดินผสมวัสดุปลูกชนิดต่างๆ ใช้ถุงพลาสติกครอบกระถางไว้ 1 สัปดาห์ โดยในระหว่างนี้ควรใช้เข็มเจาะถุงพลาสติกให้เป็นรูเพื่อลดความชื้นไปด้วย จากนั้นนำถุงพลาสติกออก รดน้ำตามปกติ เก็บผลการทดลองเมื่อครบ 4 สัปดาห์และ 8 สัปดาห์

3.2.5 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระทือ *Zingiber zerumbet* (L.) Smith.

3.2.5.1 การชักนำให้เกิดยอด

นำเหง้าของกระทือมาล้างทำความสะอาดเศษดินและสิ่งสกปรกต่างๆ ออกโดยใช้น้ำยาทีโพ จากนั้นล้างโดยปล่อยให้น้ำไหลผ่านเป็นเวลา 30 นาที นำเข้าตู้ปลอดเชื้อ นำเหง้าที่ได้มาแช่ในแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 1 นาที และฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอร็อกเข้มข้น 20% และ 15% หยด tween 20 1-2 หยด เป็นเวลา 15 และ 10 นาที ตามลำดับ จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที จากนั้นนำเหง้าที่ได้มาตัดเอาเฉพาะส่วนของตาเหง้าให้มีขนาดเท่าๆ กัน ประมาณ 0.5x0.5 ซม. นำมาวางบนอาหารสูตร MS ร่วมกับฮอร์โมน BA 2 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

จากนั้นนำยอดที่ได้มาตัดให้มีความยาวประมาณ 1 ซม. วางบนอาหารสูตร MS ร่วมกับฮอร์โมน BA (2 มก/ล) NAA (0.5 มก/ล) และ TDZ (2 มก/ล) เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากนั้นชักนำยอดต่อด้วยการใช้อาหารสูตร MS ร่วมกับ ฮอร์โมนกลุ่มไซโตไคนินเช่น BA และ KN เป็นต้น ร่วมกับ

ฮอร์โมนกลุ่มออกซินเช่น IAA และ IBA เป็นต้น และเพิ่มสารอื่นๆ เช่น น้ำมะพร้าว โพรลีน และเคซีน เป็นต้น ทำการทดลองสูตรละ 30 ซ้ำ

3.2.5.2 การชักนำราก

นำต้นกระทือที่ได้จากการชักนำให้เกิดยอดจากข้างต้นมาชักนำให้เกิดรากด้วยอาหารสูตร MS ร่วมกับฮอร์โมน IBA (0, 0.2, 0.5, 1 มก/ล) ทำการทดลองสูตรละ 30 ซ้ำ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

3.2.5.3 การปรับสภาพและการนำออกปลูก

นำต้นพืชที่ได้จากห้องเพาะเลี้ยงวางที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 สัปดาห์ จากนั้นนำต้นพืชมาล้างวุ้นออกให้หมด แช่รากพืชด้วยยาฆ่าเชื้อรานาน 5 นาที จากนั้นนำต้นพืชที่ได้ปลูกลงในแผงเพาะกล้าไม้ด้วยดินผสมแกลบเผา ใช้ถุงพลาสติกคลุมแผงเพาะกล้าไม้ทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ จากนั้นนำต้นพืชปลูกลงในกระถางที่มีดินผสมวัสดุปลูกชนิดต่างๆ ใช้ถุงพลาสติกครอบกระถางไว้ 1 สัปดาห์ โดยในระหว่างนี้ควรใช้เข็มเจาะถุงพลาสติกให้เป็นรูเพื่อลดความชื้นไปด้วย จากนั้นนำถุงพลาสติกออก รดน้ำตามปกติ เก็บผลการทดลองเมื่อครบ 4 สัปดาห์และ 8 สัปดาห์

3.3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้วิธี One-way ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละหน่วยทดลอง ด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชั่น 11.0

3.4 การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการและการวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

3.4.1 การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ

พืชวงศ์ขิงบางชนิดมีส่วนที่สามารถนำมาบริโภคได้ ในการศึกษาครั้งนี้จึงเลือกใช้อวัยวะบางส่วนของต้นตูบหมูบมาทำการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ ดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 ส่วนที่ของพืชและแหล่งที่มาสำหรับนำมาวิเคราะห์คุณค่าทางอาหาร

ลำดับที่	ชื่อวิทยาศาสตร์	ส่วนที่ใช้	แหล่ง
1.	*Keampferia marginata* Carey.	ใบอ่อน	ในหลอดทดลอง
2.	*Keampferia marginata* Carey.	ใบอ่อน	ในป่าธรรมชาติ

การวัดปริมาณโปรตีน ไขมัน และเยื่อใย วิเคราะห์ตามวิธี AOAC (1990) โดยหน่วยบริการห้องปฏิบัติการ อาคารเครื่องมือ 1 ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรารี

การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ นำใบสดของพืชวงศ์ขิงปริมาณ 0.1 กรัม เติมในโตรเจนเหลวและบดให้ละเอียดด้วยโกร่ง เติมแอลกอฮอล์ 100% 20 มล จนเนื้อเยื่อเปลี่ยนเป็นสีขาวใส จากนั้นกรองเอากากออก ปรับปริมาตรเป็น 30 มล ด้วยแอลกอฮอล์ 100% หุ้มภาชนะที่บรรจุสารสกัดคลอโรฟิลล์ด้วยอลูมิเนียมฟลอยด์ จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectro photometer ที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร และนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (a) และคลอโรฟิลล์ บี (b)

3.4.2 การวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

นำใบสดของพืชวงศ์ขิงปริมาณ 1 กรัม เติมในโตรเจนเหลวและบดให้ละเอียดด้วยโกร่ง จากนั้นเติมเมทานอล 50 มล. นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชม. จากนั้นกรองเอากากทิ้ง เก็บสารสกัดที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยนำสารที่สกัดไว้มา 1 มล. จากนั้นเติมสารละลาย DPPH 2 มล ทิ้งไว้ 30 นาทีจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (Chan et al., 2007)

3.5 ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยเทคนิคอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA; RAPD)

3.5.1 การสกัดดีเอ็นเอ

นำใบพืชวงศ์ขิง 0.2 กรัม เติมไนโตรจนเหลวและบดให้ละเอียดด้วยโกร่ง นำตัวอย่างที่เป็นละเอียดแล้วใส่ทิวเติม CTAB ปริมาตร 200 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นเติม chloroform : isoamyl (24:1) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที ดูดสารส่วนบนใส่ทิวใหม่ เติม RNase ปริมาตร 5 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เติม chloroform : isoamyl (24:1) อัตราส่วน 1:1 (ตัวอย่างที่ดูดได้: chloroform : isoamyl ปริมาตรเท่ากับตัวอย่างที่ดูดได้) นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดสารส่วนบนใส่ทิวใหม่ เติมโซเดียมอะซีเตต เข้มข้น 3 โมลล์ พีเอช 5.0 ปริมาตร 1/10 volume และ 1 volume cold isopropanal จากนั้นทิ้งไว้ข้ามคืนที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาที ค่อยๆ เทส่วนที่

เป็นน้ำทิ้ง ล้างดีเอ็นเอด้วยแอลกอฮอล์ 70% ปริมาตร 1 มล นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที เทแอลกอฮอล์ 70% ทิ้ง เปิดฝาทิวป์แล้วคว่ำปากหลอดลงบนกระดาษชำระที่วางบนวอเตอร์บาทอุณภูมิ 50 องศาเซลลเซียส รอจนแห้ง เติม TE พีเอช 8.0 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสนาน 10 นาที เก็บสารสกัดดีเอ็นเอที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3.5.2 ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของพืชวงศ์ขิงบางชนิดโดยเทคนิคอาร์เอพีดี

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยา PCR (1×reaction buffer, 2.5 mM $MgCl_2$ 200 µM dNTPs, 100 ng Primer, 5-10 ng DNA template และ 0.5 unit Taq Polymerase) ด้วยเทคนิค RAPD โดยสุ่มใช้ไพรเมอร์จำนวน 11 ชนิด S5, S10, S29, OPF4, OPF10, OPF13, OPF19, OPX1, OPX2, OPX13, และ OPX14 แล้วตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยวิธี agarose gel electrophoresis ตรวจตำแหน่งของการปรากฏและไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอของพืชแต่ละชนิด จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างต้นพืชที่ได้จากป่าธรรมชาติกับต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากหลอดทดลองด้วยวิธี UPGMA ในการวิเคราะห์แบบ cluster analysis และแสดงความสัมพันธ์ของพืชในรูป Dendrogram

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตูบหมูบ *Kaempferia marginata* Gagnep.

4.1.1 ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการฟอกฆ่าเชื้อเหง้า

จากการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการฟอกฆ่าเชื้อเหง้า โดยนำเหง้ามาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาที่ฟอกฆ่าเชื้อแตกต่างกัน 3 วิธี พบว่าวิธีฟอกฆ่าเชื้อวิธีที่ 3 คือนำเหง้ามาฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 25% เป็นเวลา 25 นาที ตามด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปรคลอไรท์ 20% เวลา 20 นาที หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ เหง้าที่เพาะเลี้ยงมีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อมากที่สุด 40% มีจำนวนยอด 1 ยอด/ชิ้นส่วนพืช มีความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 0.60 ซม. จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 0.45 ราก/ชิ้นส่วนพืช ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 0.50 ซม. ส่วนการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ 1 คือฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 15% เป็นเวลา 15 นาที ตามด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 10% เวลา 10 นาที และวิธีที่ 2 คือฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 20% เป็นเวลา 20 นาที ตามด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 15% เวลา 15 นาที มีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อ 30% ในแต่ละวิธีการฟอกฆ่าเชื้อความยาวยอดเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และจำนวนรากเฉลี่ย มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT (ตารางที่ 4.1 และ ภาพที่ 4.1)

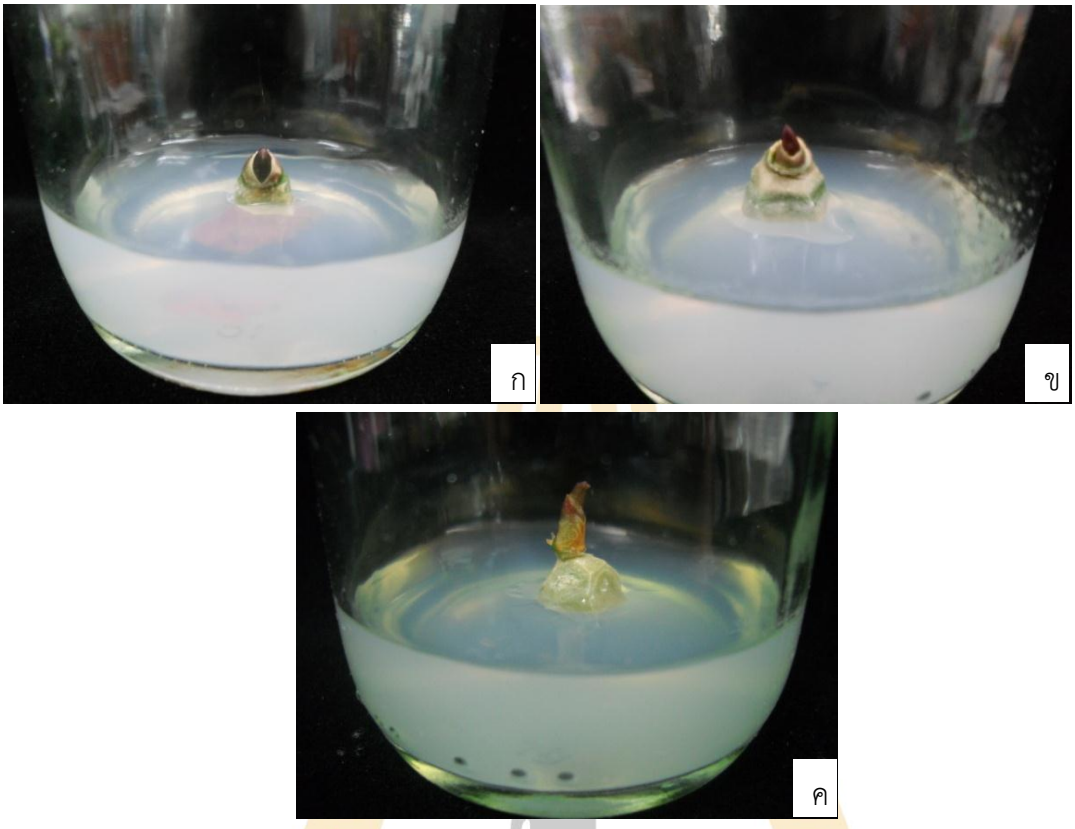
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.1 เปรียบเทียบวิธีการฟอกฆ่าเชื้อเหง้า

วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ	จำนวนครั้งที่ฟอกฆ่าเชื้อ	ความเข้มข้นของโซเดียม ไฮโปคลอไรท์	ระยะ เวลา (นาที)	เปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อ	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.) mean±SE	จำนวนรากเฉลี่ยราก/ชิ้นส่วนพืช mean±SE	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.) mean±SE
1	1	15%	15	30	0.14±0.07[a]	0[b]	0[a]
	2	10%	10				
2	1	20%	20	30	0.24±0.15[a]	0[b]	0[a]
	2	15%	15				
3	1	25%	25	40	0.60±0.31[a]	0.45±0.22[a]	0.50±0.35[a]
	2	20%	20				

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 4.1 เปรียบเทียบวิธีการฟอกฆ่าเชื้อเห้า

ก. ฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 15% เวลา 15 นาที ตามด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 10% เวลา 10 นาที

ข. ฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 20% เวลา 20 นาที ตามด้วยโซเดียไฮโปคลอไรท์ 15% เวลา 15 นาที

ค. ฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 25% เวลา 25 นาที ตามด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 20% เวลา 20 นาที

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4.1.2 ผลของฮอร์โมน BA ร่วมกับ Kinetin ต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดแคลลัส ต้นและราก

จากการศึกษาผลของฮอร์โมน BA ร่วมกับ Kinetin ที่เหมาะสมต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดแคลลัส ต้นและราก โดยใช้ต้นอ่อนที่ปลอดเชื้อในหลอดทดลอง ขนาดประมาณ 1 ซม. นำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 2 มก/ล ร่วมกับ Kinetin ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1, 1.5, 2 และ 2.5 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนตูบหมูบที่เพาะเลี้ยงมีลักษณะลำต้นสีเขียว อวบ ใบมีสีเขียวขนาดใหญ่ ปลายใบแหลม ฐานใบมน รากผอมมีสีขาวและสีเขียว ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 2 มก/ล และ Kinetin 2.5 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 80% โดยเกิดแคลลัสขึ้นที่โคนต้น แคลลัสมีสีขาว เกาะกันอย่างหลวมๆ (friable callus) ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่นๆ ที่มีฮอร์โมน BA และ Kinetin เกิดแคลลัสทุกสูตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.90 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.90 ซม. จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 3.50 ราก/ชิ้นส่วนพืช ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 2.05 ซม. จำนวนยอดเฉลี่ย มีความแตกต่างทางสถิติ ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT (ตารางที่ 4.2 และ ภาพที่ 4.2 และ 4.3)

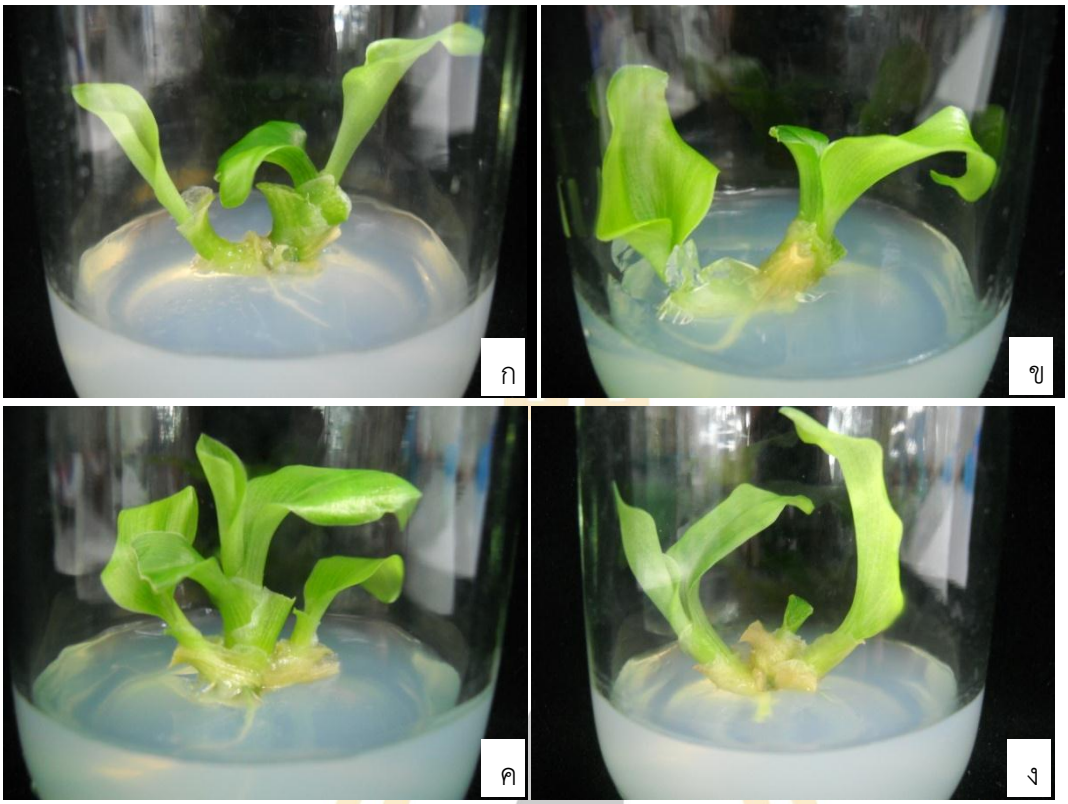
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.2 ผลของฮอร์โมน BA ร่วมกับ Kinetin ที่เหมาะสมต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดแคลลัส ต้นและราก

BA (มก/ล)	Kinetin (มก/ล)	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช) mean±SE	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.) mean±SE	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช) mean±SE	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.) mean±SE
0	0	0	1.30±0.21^{c}	1.90±0.19^{a}	3.50±0.70^{a}	1.02±0.19^{a}
2	0.1	50	1.80±0.24^{bc}	1.47±0.20^{a}	2.30±0.51^{a}	1.03±0.19^{a}
2	0.5	70	2.20±0.24^{abc}	1.78±0.20^{a}	2.20±0.46^{a}	2.05±0.55^{a}
2	1	70	2.90±0.48^{a}	1.46±0.20^{a}	1.70±0.36^{a}	1.13±0.25^{a}
2	1.5	60	2.90±0.34^{a}	1.82±0.22^{a}	2.10±0.50^{a}	1.98±0.27^{a}
2	2	70	2.70±0.21^{ab}	1.54±0.12^{a}	2.20±0.75^{a}	1.44±0.34^{a}
2	2.5	80	2.90±0.50^{a}	1.27±0.25^{a}	1.80±0.57^{a}	1.28±0.36^{a}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 4.2 ลักษณะของแคลลัส ต้นและรากตูบหมูบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ร่วมกับ Kinetin ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์

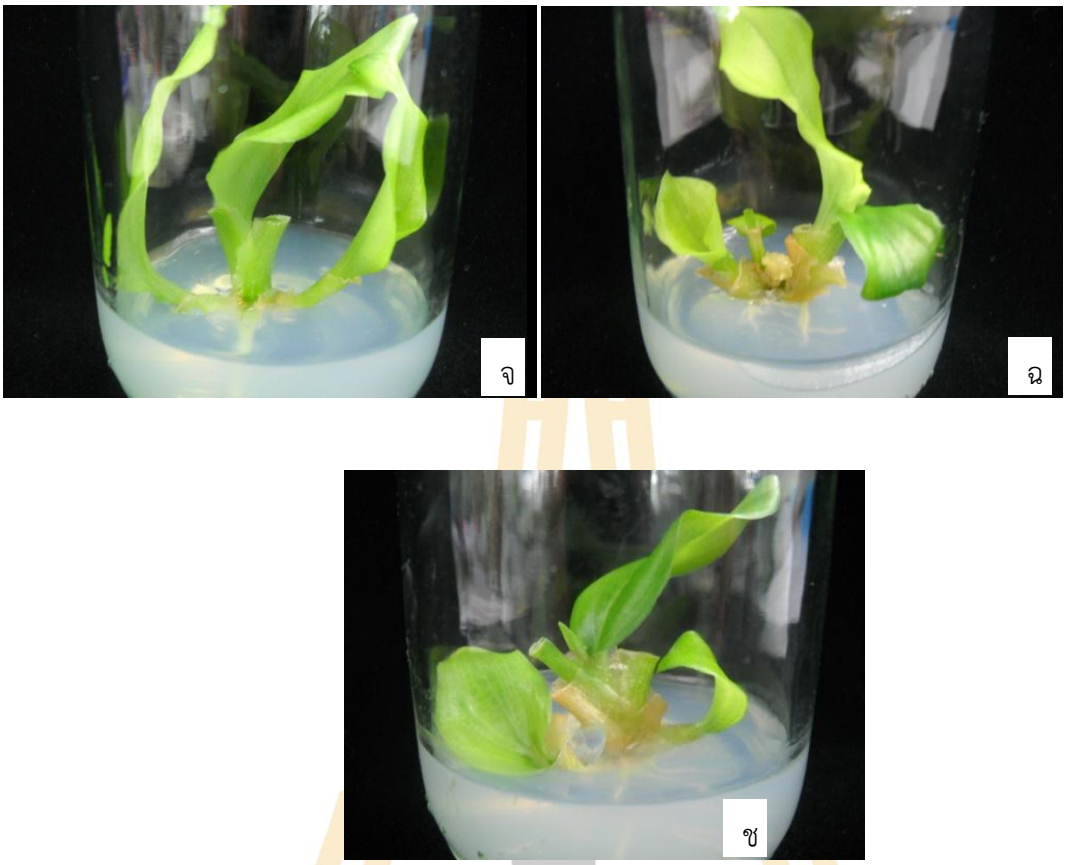
ก. เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมฮอร์โมน

ข. เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 2 มก/ล ร่วมกับ Kinetin 0.1 มก/ล

ค. เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 2 มก/ล ร่วมกับ Kinetin 0.5 มก/ล

ง. เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 2 มก/ล ร่วมกับ Kinetin 1 มก/ล

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 4.3 ลักษณะของแคลลัส ต้นและรากตูบหมูบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ร่วมกับ Kinetin ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์ (ต่อ)

จ. เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 2 มก/ล ร่วมกับ Kinetin 1.5 มก/ล

ฉ. เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 2 มก/ล ร่วมกับ Kinetin 2 มก/ล

ช. เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 2 มก/ล ร่วมกับ Kinetin 2.5 มก/ล

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4.1.3 ผลของฮอร์โมน BA ร่วมกับ TDZ ต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดแคลลัส ต้นและราก

จากการศึกษาผลของฮอร์โมน BA ร่วมกับ TDZ ที่เหมาะสมต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดแคลลัส ต้นและราก โดยใช้ต้นอ่อนที่ปลอดเชื้อในหลอดทดลอง ขนาดประมาณ 1 ซม. นำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 2 มก/ล ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 และ 4 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนตูบหมูบที่เพาะเลี้ยงมีลักษณะลำต้นสั้นสีเขียว อวบ ใบมีสีเขียว ปลายใบแหลม ผิวใบด้านล่างสีม่วงแดง มีรากอวบและผอม มีสีขาวและสีเขียว ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 2 ร่วมกับ TDZ 1.5, 3 และ 4 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 90% เกิดแคลลัสที่โคนต้น แคลลัสมีสีขาว เกาะกันอยู่อย่างหลวมๆ ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่นๆ ที่มีฮอร์โมน BA และ TDZ เกิดแคลลัสทุกสูตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.90 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.94 ซม. จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 5.40 ราก/ชิ้นส่วนพืช ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 2.54 ซม. จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ย มีความแตกต่างทางสถิติ และจำนวนราก ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT (ตารางที่ 4.3 และ ภาพที่ 4.4 และ 4.5)

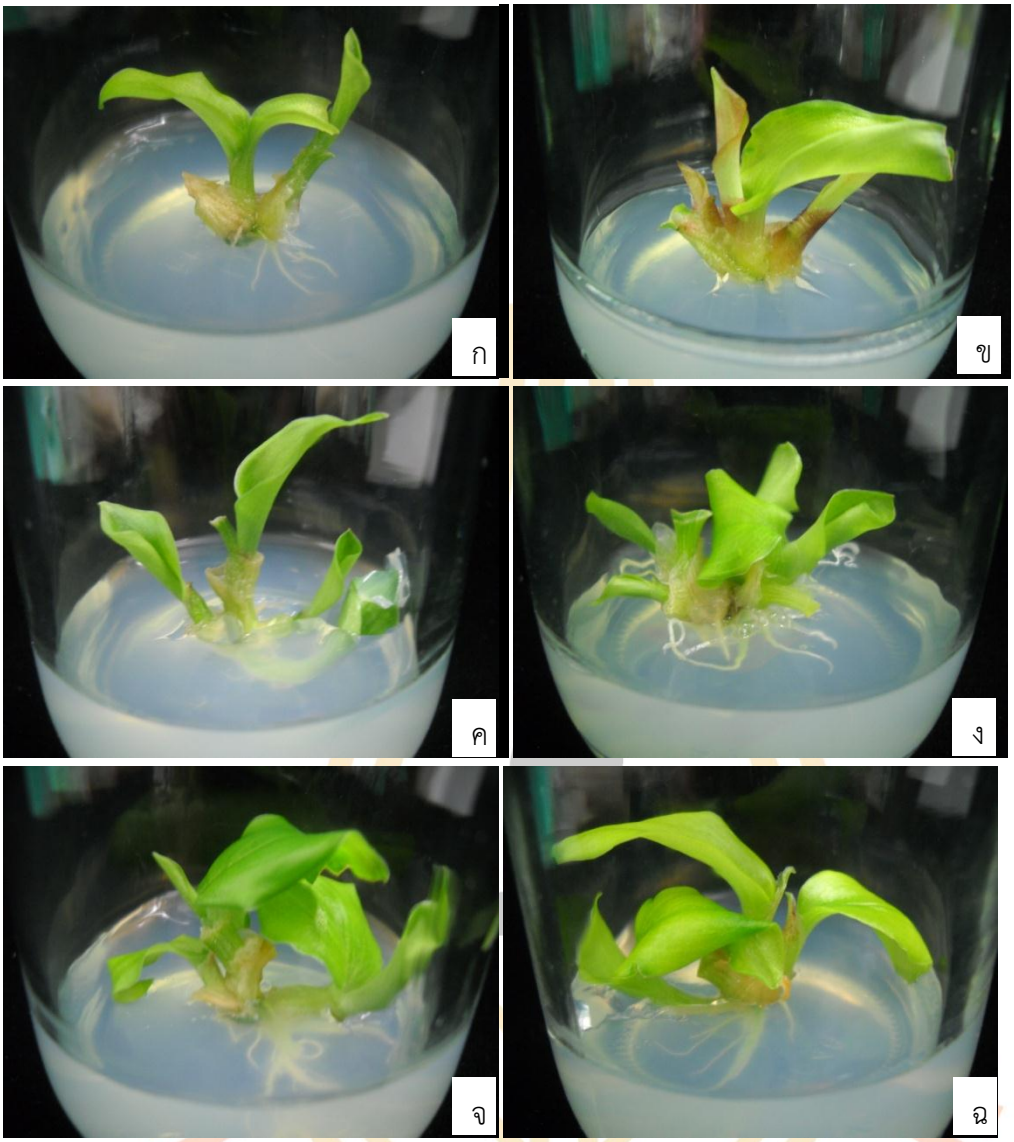
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.3 ผลของฮอร์โมน BA ร่วมกับ TDZ ที่เหมาะสมต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดแคลลัส ต้นและราก

BA (มก/ล)	TDZ (มก/ล)	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช) mean±SE	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.) mean±SE	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช) mean±SE	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.) mean±SE
0	0	0	1.50±0.26^{b}	1.89±0.11^{ab}	5.40±0.74^{a}	2.21±0.13^{ab}
2	0.1	30	2.50±0.22^{ab}	1.94±0.12^{a}	5.20±0.95^{a}	2.54±0.22^{a}
2	0.5	70	3.50±0.47^{ab}	1.83±0.17^{abc}	4.20±0.97^{a}	1.54±0.30^{b}
2	1	80	4.90±1.77^{a}	1.11±0.12^{d}	5.20±1.15^{a}	1.92±0.20^{ab}
2	1.5	90	2.50±0.52^{ab}	1.40±0.17^{cd}	3.70±0.61^{a}	2.13±0.25^{ab}
2	2	50	2.40±0.33^{ab}	1.50±0.12^{bcd}	3.60±0.85^{a}	1.92±0.25^{ab}
2	2.5	70	3.30±0.47^{ab}	1.32±0.12^{d}	3.30±0.51^{a}	1.50±0.16^{b}
2	3	90	4.50±1.19^{a}	1.48±0.15^{bcd}	5.10±1.06^{a}	2.12±0.19^{ab}
2	3.5	80	3.10±0.52^{ab}	1.84±0.12^{ab}	4.70±0.98^{a}	2.11±0.34^{ab}
2	4	90	3.70±0.42^{ab}	1.38±0.12^{d}	4.20±0.48^{a}	2.25±0.29^{ab}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 4.4 ลักษณะของแคลลัส ต้นและรากตูบหมูบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ก. เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมฮอร์โมน

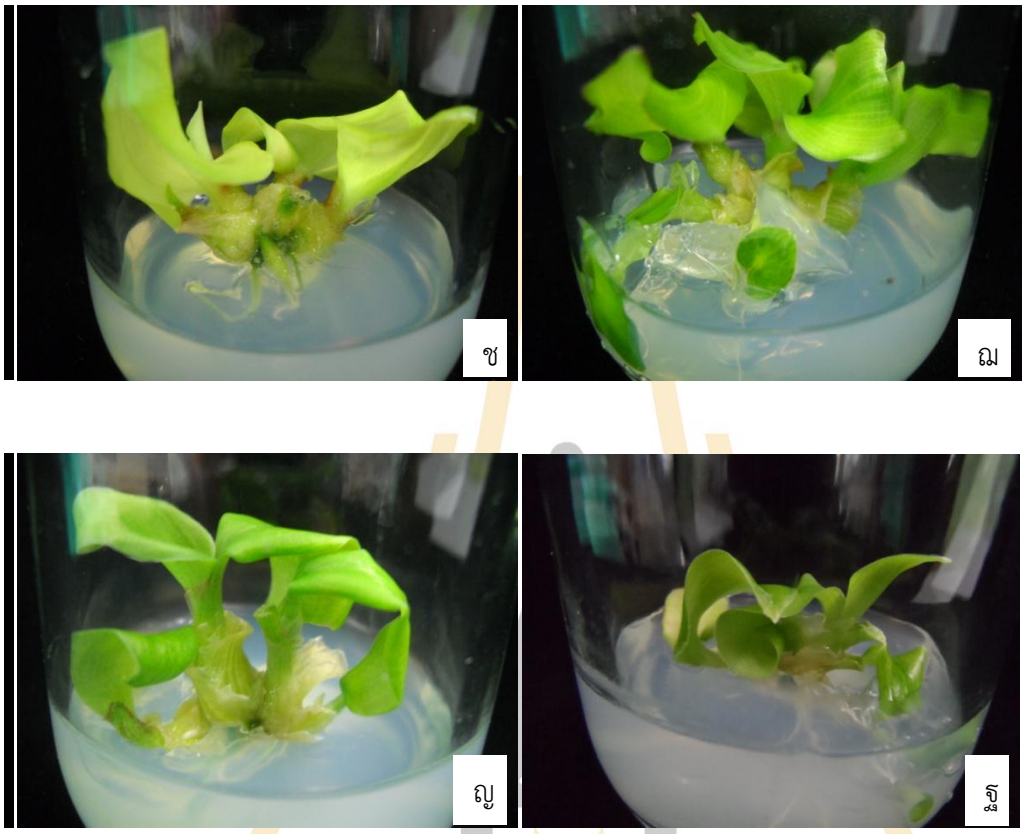
ข. เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 2 มก/ล ร่วมกับ TDZ 0.1 มก/ล

ค. เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 2 มก/ล ร่วมกับ TDZ 0.5 มก/ล

ง. เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 2 มก/ล ร่วมกับ TDZ 1 มก/ล

จ. เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 2 มก/ล ร่วมกับ TDZ 1.5 มก/ล

ฉ. เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 2 มก/ล ร่วมกับ TDZ 2 มก/ล



ภาพที่ 4.5 ลักษณะของต้นตูบหมูบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์ (ต่อ)

ช. เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 2 มก/ล ร่วมกับ TDZ 2.5 มก/ล

ฌ. เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 2 มก/ล ร่วมกับ TDZ 3 มก/ล

ญ. เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 2 มก/ล ร่วมกับ TDZ 3.5 มก/ล

ฐ. เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 2 มก/ล ร่วมกับ TDZ 4 มก/ล

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

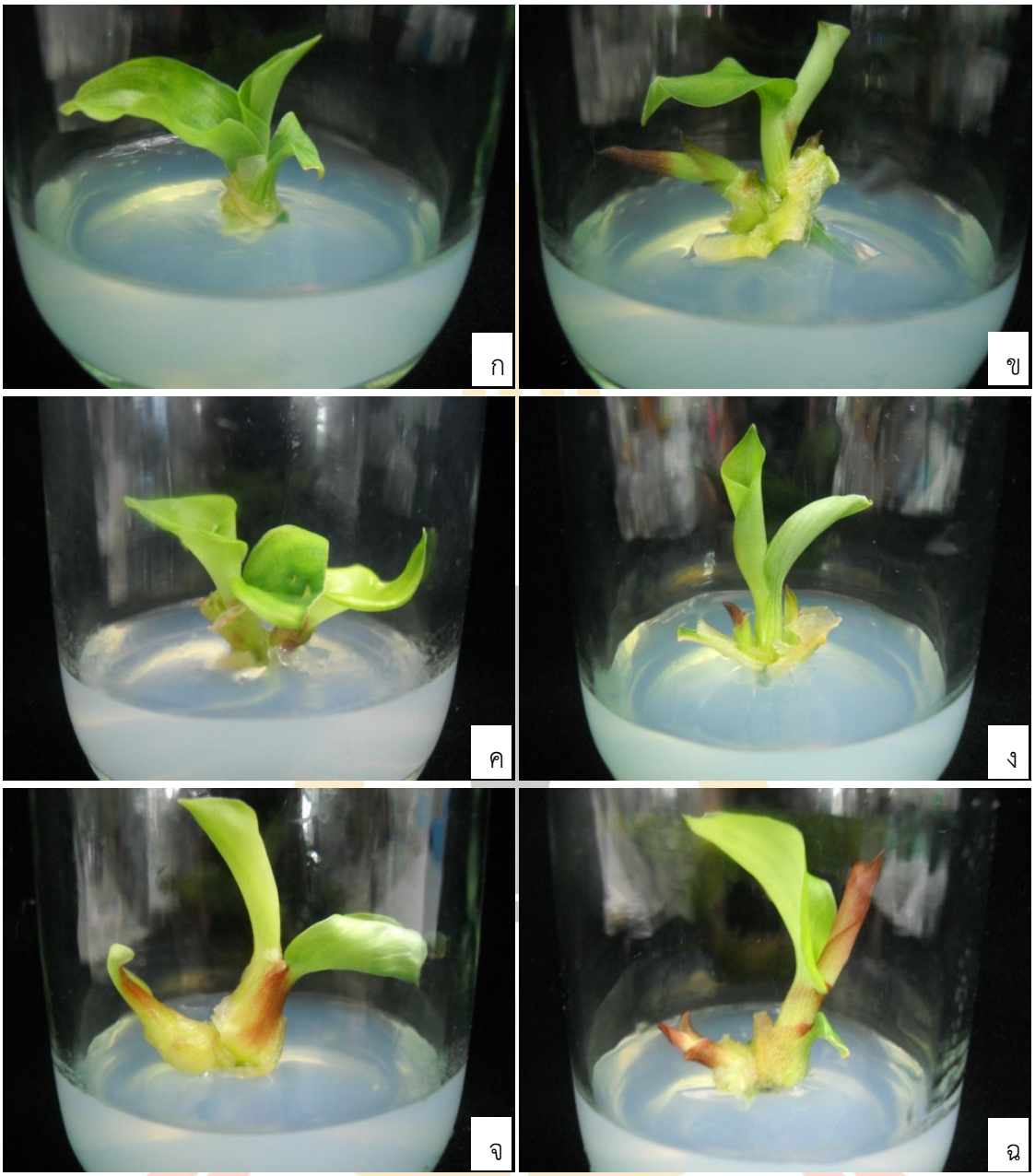
4.1.4 ผลของฮอร์โมน TDZ ต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดแคลลัส ต้นและราก

จากการศึกษาผลของฮอร์โมน TDZ ที่เหมาะสมต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดแคลลัส ต้นและราก โดยใช้ต้นอ่อนที่ปลอดเชื้อในหลอดทดลอง ขนาดประมาณ 1 ซม. นำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 และ 1 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนตูบหมูบที่เพาะเลี้ยงมีลักษณะลำต้นสีเขียว อวบ ลำต้นสั้น ใบมีสีเขียวขนาดใหญ่ แผ่แบน ปลายใบแหลม ฐานใบมน ใบอ่อน ผิวใบด้านล่างสีม่วงแดง รากอวบ มีสีขาวและสีเขียว ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมฮอร์โมน TDZ 0.7 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากที่สุด 80% โดยเกิดแคลลัสสีขาวที่โคนต้น เป็นแคลลัสเกาะกันอย่างหลวมๆ ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่นๆ ที่มีฮอร์โมน TDZ เกิดแคลลัสทุกสูตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.20 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.28 ซม. จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 5.80 ราก/ชิ้นส่วนพืช ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 2.04 ซม. จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย และจำนวนรากเฉลี่ย มีความแตกต่างทางสถิติ ความยาวรากเฉลี่ย ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT (ตารางที่ 4.4 และ ภาพที่ 4.6)

ตารางที่ 4.4 ผลของฮอร์โมน TDZ ที่เหมาะสมต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดแคลลัส ต้นและราก

TDZ (มก/ล)	เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช) mean±SE	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.) mean±SE	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช) mean±SE	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.) mean±SE
0	0	1.00±0.00^{b}	2.01±0.18^{b}	5.80±0.53^{a}	2.04±0.21^{a}
0.1	60	2.10±0.18^{a}	3.15±0.32^{a}	4.50±0.67^{a}	1.46±0.24^{a}
0.3	70	2.00±0.00^{a}	3.11±0.27^{a}	2.50±0.22^{b}	1.54±0.32^{a}
0.5	70	2.20±0.20^{a}	3.19±0.31^{a}	1.30±0.39^{b}	1.40±0.40^{a}
0.7	80	1.90±0.18^{a}	2.94±0.29^{a}	2.20±0.53^{b}	1.97±0.10^{a}
1	70	1.80±0.13^{a}	3.28±0.43^{a}	2.50±0.45^{b}	2.01±0.21^{a}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT



ภาพที่ 4.6 ลักษณะของแคลลัส ต้นและรากตูบหมูบที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ก. เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมฮอร์โมน

ข. เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมฮอร์โมน TDZ 0.1 มก/ล

ค. เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมฮอร์โมน TDZ 0.3 มก/ล

ง. เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมฮอร์โมน TDZ 0.5 มก/ล

จ. เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมฮอร์โมน TDZ 0.7 มก/ล

ฉ. เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมฮอร์โมน TDZ 1 มก/ล

4.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระเจียวขาว *Curcuma parviflora* Wall.

4.2.1 การฟอกฆ่าเชื้อ

จากการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการฟอกฆ่าเชื้อตาเหง้ากระเจียวขาว จากชิ้นส่วนตาเหง้ากระเจียวขาวที่ได้จากสภาพธรรมชาติและตาเหง้ากระเจียวขาวที่เกิดยอดใหม่ ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาที่แช่โซเดียมไฮโปคลอไรท์แตกต่างกัน 4 วิธี

วิธีที่ 1 นำตาเหง้ากระเจียวขาวฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 1 ด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 15% เวลา 15 นาที และฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 2 ด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 10% เวลา 10 นาที

วิธีที่ 2 นำตาเหง้ากระเจียวขาวฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 1 ด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 20% เวลา 20 นาที และฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 2 ด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 15% เวลา 20 นาที

วิธีที่ 3 นำตาเหง้ากระเจียวขาวฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 1 ด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 20% เวลา 30 นาที และฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 2 ด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 15% เวลา 20 นาที

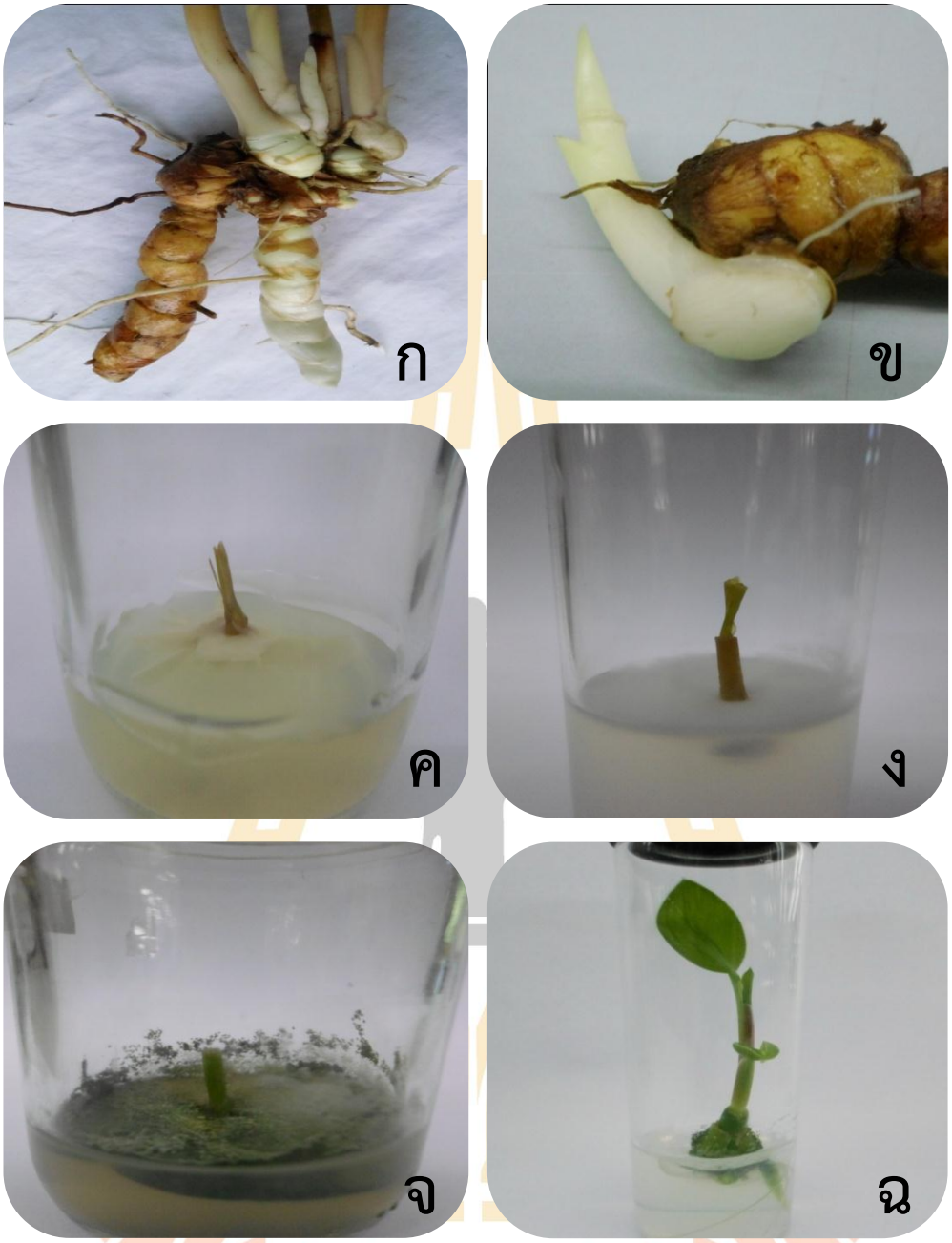
วิธีที่ 4 นำตาเหง้ากระเจียวขาวฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 1 ด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 25% เวลา 15 นาที และฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 2 ด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 10% เวลา 10 นาที

จากนั้นนำตาเหง้าที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ตารางที่ 4.5) พบว่า ชิ้นส่วนตาเหง้ากระเจียวขาวที่ได้จากสภาพธรรมชาติ เมื่อนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ มีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ 100% หลังจากเพาะเลี้ยง 2 วัน เริ่มมีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย โดยมีลักษณะเป็นเมือก สีขาวขุ่น สีเหลืองแกมน้ำตาล และหลังจากนั้นอีก 5 วัน เริ่มมีการปนเปื้อนเชื้อรา โดยมีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาว และมีลักษณะคล้ายฝุ่นผงสีเขียว สีน้ำตาล (ภาพที่ 4.7) สำหรับตาเหง้ากระเจียวขาวที่เกิดยอดใหม่ เมื่อนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 20% เวลา 20 นาที ตามด้วยโซเดียม ไฮโปคลอไรท์ 15% เวลา 20 นาที มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อสูงที่สุด 55% รองลงมาคือ ตาเหง้าที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 20% เวลา 30 นาที ตามด้วยโซเดียมไฮโป คลอไรท์ 15% เวลา 20 นาที มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ 53.33% ตาเหง้าที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 25% เวลา 15 นาที ตามด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 10% เวลา 10 นาที มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ 50% และตาเหง้าที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 15% เวลา 15 นาที ตามด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 10% เวลา 10 นาที มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ 40%

ตารางที่ 4.5 เปรียบเทียบวิธีการฟอกฆ่าเชื้อตาเหง้ากระเจียวขาวที่ได้จากสภาพธรรมชาติและตาเหง้ากระเจียวขาวที่เกิดยอดใหม่ เมื่อนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่มีความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ตาเหง้ากระเจียวขาว	วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ	โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (clorox)		จำนวนที่เพาะเลี้ยง (ขวด)	จำนวนที่ปลอดเชื้อ (ขวด)	เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ (%)	เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน (%)
		ความเข้มข้น	เวลา (นาที)				
ตาเหง้ากระเจียวขาวในสภาพธรรมชาติ	1	15% 10%	15 10	10	0	0	100
	2	20% 15%	20 20	10	0	0	100
	3	20% 15%	30 20	10	0	0	100
	4	25% 10%	15 10	12	0	0	100
ตาเหง้ากระเจียวขาวที่เกิดยอดใหม่	1	15% 10%	15 10	15	6	40	60
	2	20% 15%	20 20	20	11	55	45
	3	20% 15%	30 20	15	8	53.33	46.67
	4	25% 10%	15 10	16	8	50	50

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 4.7 กระเจียวขาว *C. parviflora* ที่นำมาฟอกฆ่าเชื้อ

ก. ตาเหง้ากระเจียวขาวในสภาพธรรมชาติ

ข. ตาเหง้ากระเจียวขาวที่เกิดยอดใหม่

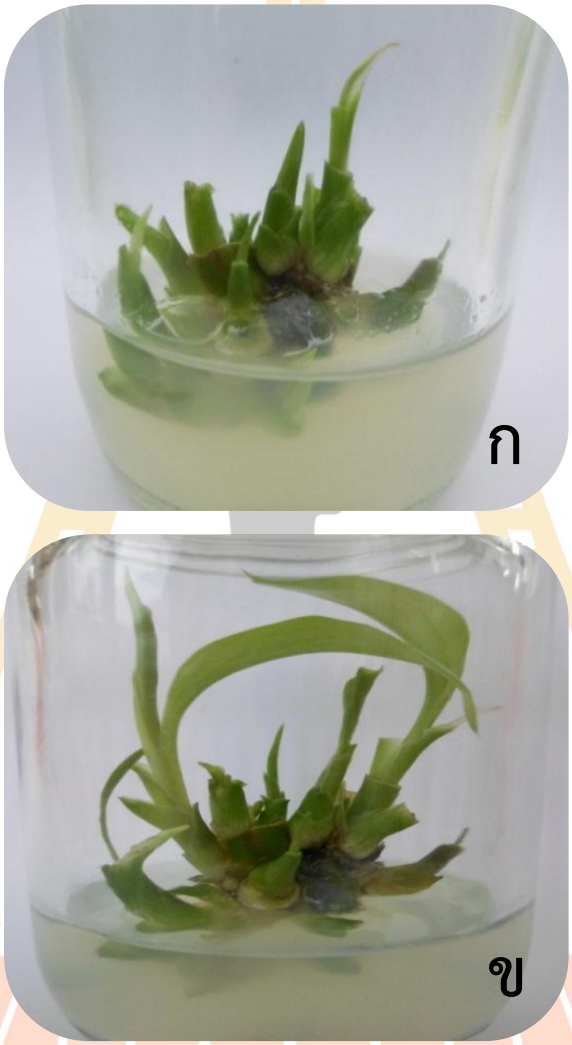
ค. กระเจียวขาวที่มีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย

ง. กระเจียวขาวที่มีการปนเปื้อนเชื้อรา เป็นเวลา 7 วัน

จ. กระเจียวขาวที่มีการปนเปื้อนเชื้อรา เป็นเวลา 12 วัน

ฉ. กระเจียวขาวในสภาพปลอดเชื้อ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

จากนั้นย้ายเนื้อเยื่อกระเจียวขาวที่ปลอดเชื้อย้ายไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 2 มก/ล เพื่อเพิ่มจำนวนยอด เมื่อได้ต้นอ่อนจำนวนมากพอนำมาปรับสภาพในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน เป็นเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นนำไปใช้ทำการทดลองที่ 2 ต่อไป (ภาพที่ 4.8)



ภาพที่ 4.8 การเพิ่มจำนวนกระเจียวขาว *C. parviflora*

ก. กระเจียวขาวที่ได้จากการเพิ่มจำนวนในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 2 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

ข. กระเจียวขาวที่ได้จากการปรับสภาพในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์

4.2.2 การเพิ่มจำนวนยอดและราก

เมื่อนำหน่ออ่อนกระเจียวขาวขนาดประมาณ 1 ซม. ที่อยู่ในขวดเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อไม่มีราก นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 0.1 มก/ล ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 4 และ 8 มก/ล เพาะเลี้ยงความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนและที่เติมฮอร์โมนเฉพาะฮอร์โมน TDZ ความเข้มข้น 0.5 และ 1 มก/ล และต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม NAA 0.1 มก/ล ร่วมกับ TDZ 0.5, 1 และ 4 มก/ล สามารถชักนำให้ต้นอ่อนเกิดยอด 100% ซึ่งสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน TDZ 1 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.1 มก/ล มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 2.50 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และมีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด 1.96 ใบ/ชิ้นส่วนพืช สูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน TDZ 0.5 มก/ล เพียงอย่างเดียว มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 2.93 ซม. ซึ่งยอดที่เกิดใหม่จะเกิดขนานเป็นแนวเดียวกันกับการเรียงตัวของตาข้าง ใบรูปร่างรีคล้ายใบหอก มีสีเขียวตลอดแผ่นใบ กาบใบสีเขียวและสีแดง (ภาพที่ 4.9) และพบว่าสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน TDZ 1 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.1 มก/ล สามารถชักนำให้ต้นกระเจียวขาวเกิดราก 100% สูตรอาหารที่เติม NAA 0.1 มก/ล เพียงอย่างเดียว มีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 7.67 ราก/ชิ้นส่วนพืช และสูตรอาหารที่เติม TDZ 0.5 มก/ล มีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด 3.17 ซม. ซึ่งรากที่เกิดมีทั้งลักษณะอวบและลักษณะเป็นเส้นผอมบาง รากที่มีลักษณะอวบ บริเวณโคนรากมีสีเขียว ปลายรากมีสีขาว ส่วนรากที่มีลักษณะเป็นเส้นผอมบาง จะมีสีขาวตลอดทั้งราก (ภาพที่ 4.10) เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าจำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 4.6)

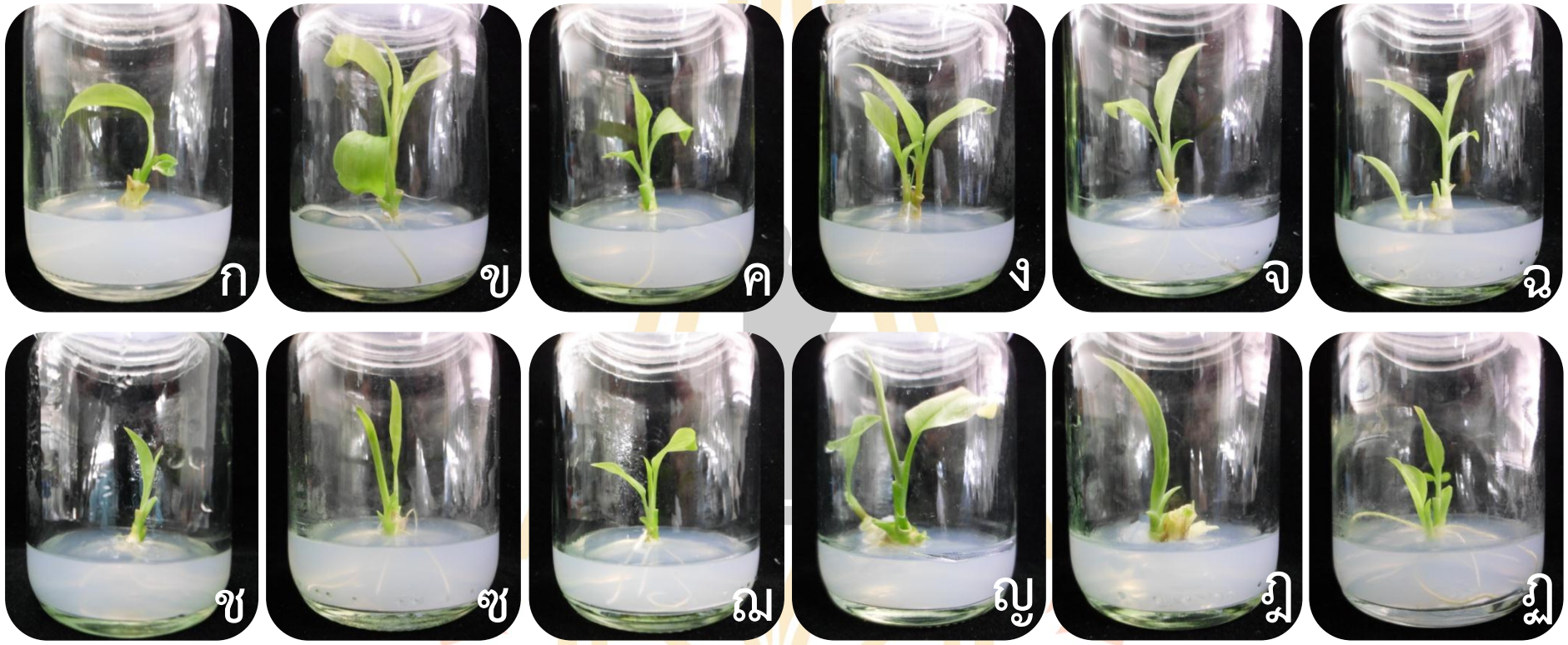
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.6 การเปรียบเทียบสูตรอาหารเพาะเลี้ยงกระเจียวขาวในการเพิ่มจำนวนยอดและราก เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

สารควบคุมการเจริญเติบโตพืช		เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด (%)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช) Mean±SE	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.) Mean±SE	จำนวนใบเฉลี่ย (ใบ/ชิ้นส่วนพืช) Mean±SE	เปอร์เซ็นต์การเกิดราก (%)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช) Mean±SE	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.) Mean±SE
NAA (มก/ล)	TDZ (มก/ล)							
0	0	100	1.33±0.21[a]	2.01±0.48[a]	0.86±0.33[a]	66.67	3.33±1.45[a]	1.83±0.65[a]
0	0.5	100	1.50±0.22[a]	2.93±0.59[a]	1.77±0.28[a]	83.33	3.50±1.18[a]	3.17±0.31[a]
0	1	100	1.83±0.65[a]	2.78±0.84[a]	1.22±0.43[a]	50.00	4.33±2.03[a]	2.00±0.73[a]
0	2	66.67	1.50±0.76[a]	1.20±0.42[a]	0.88±0.44[a]	33.33	2.67±1.86[a]	1.33±0.80[a]
0	4	66.67	1.50±0.56[a]	1.62±0.62[a]	1.05±0.36[a]	50.00	2.50±1.23[a]	1.50±0.56[a]
0	8	83.33	2.17±0.75[a]	1.22±0.31[a]	1.06±0.47[a]	66.67	2.00±0.93[a]	1.00±0.45[a]
0.1	0	66.67	1.33±0.56[a]	1.96±0.93[a]	1.23±0.57[a]	50.00	7.67±5.40[a]	2.17±1.33[a]
0.1	0.5	100	2.17±0.31[a]	2.21±0.57[a]	1.18±0.41[a]	83.33	3.83±1.17[a]	3.17±0.91[a]
0.1	1	100	2.50±0.43[a]	2.60±0.29[a]	1.96±0.30[a]	100	4.83±1.17[a]	3.17±0.48[a]
0.1	2	83.33	1.83±0.48[a]	1.68±0.57[a]	1.41±0.63[a]	50.00	2.83±1.33[a]	1.17±0.60[a]
0.1	4	100	2.33±0.42[a]	2.16±0.33[a]	1.84±0.33[a]	83.33	2.33±0.67[a]	2.50±0.43[a]
0.1	8	66.67	1.83±0.60[a]	1.28±0.52[a]	0.96±0.45[a]	33.33	2.17±1.42[a]	1.83±0.91[a]

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

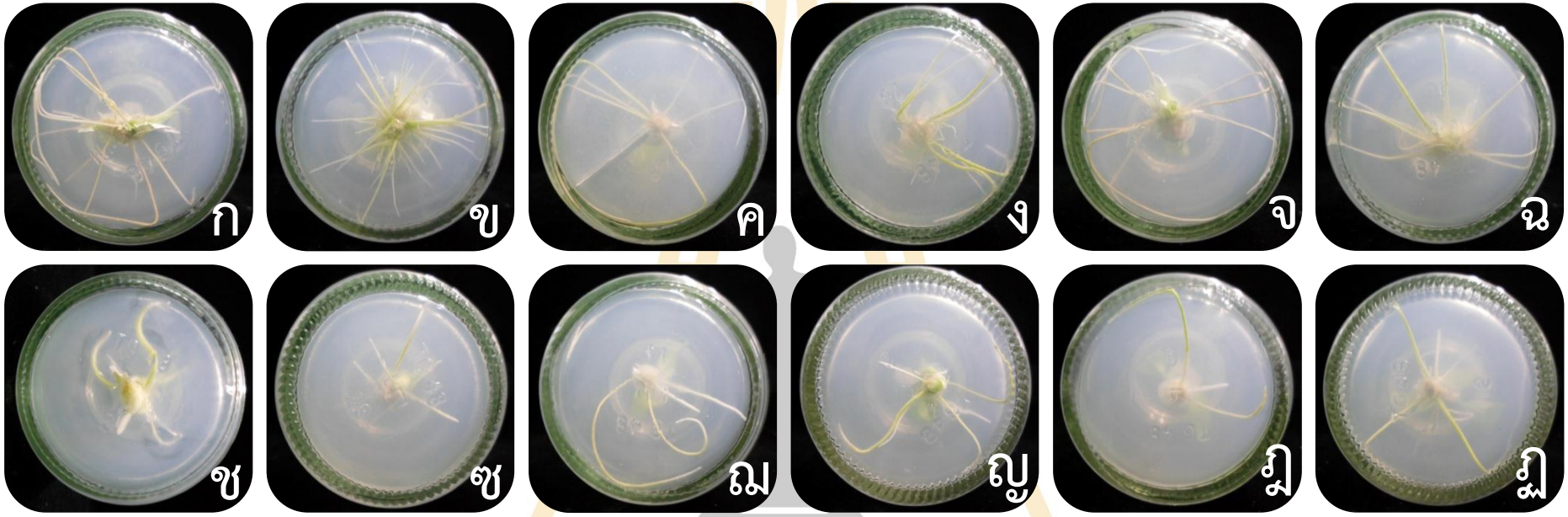


ภาพที่ 4.9 การเปรียบเทียบสูตรอาหารเพาะเลี้ยงกระเจียวขาวในการเพิ่มจำนวนยอด เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น แตกต่างกัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ก. MS
ข. NAA 0.1 มก/ล
ค. TDZ 0.5 มก/ล
ง. NAA 0.1 มก/ล+TDZ 0.5 มก/ล
จ. TDZ 1 มก/ล
ฉ. NAA 0.1 มก/ล+TDZ 1 มก/ล
ช. TDZ 2 มก/ล
ซ. NAA 0.1 มก/ล+TDZ 2 มก/ล
ฌ. TDZ 4 มก/ล
ญ. NAA 0.1 มก/ล+TDZ 4 มก/ล
ฎ. TDZ 8 มก/ล
ฏ. NAA 0.1 มก/ล+TDZ 8 มก/ล

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

61



ภาพที่ 4.10 การเปรียบเทียบสูตรอาหารเพาะเลี้ยงกระเจียวขาวในการเพิ่มจำนวนราก เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน NAA และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น แตกต่างกัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ก. MS
ข. NAA 0.1 มก/ล
ค. TDZ 0.5 มก/ล
ง. NAA 0.1 มก/ล+TDZ 0.5 มก/ล
จ. TDZ 1 มก/ล
ฉ. NAA 0.1 มก/ล+TDZ 1 มก/ล
ช. TDZ 2 มก/ล
ซ. NAA 0.1 มก/ล+TDZ 2 มก/ล
ฌ. TDZ 4 มก/ล
ญ. NAA 0.1 มก/ล+TDZ 4 มก/ล
ฎ. TDZ 8 มก/ล
ฏ. NAA 0.1 มก/ล+TDZ 8 มก/ล

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4.2.3 ชนิดอาหารต่อการเพิ่มจำนวนยอดและรากของกระเจียวขาว

เมื่อนำหน่ออ่อนกระเจียวขาวขนาดประมาณ 1 ซม. มาผ่าตามยาวและไม่ผ่าตามยาว นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งและอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มก/ล ร่วมกับ IBA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนที่ไม่ผ่าตาม ยาวในอาหารแข็งและอาหารเหลว สามารถชักนำให้ต้นอ่อนเกิดยอด 100% เพาะเลี้ยงต้นอ่อนที่ไม่ผ่าตามยาวในอาหารแข็งสามารถชักนำต้นอ่อนให้มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 3.44 ยอด/ชิ้นส่วนพืช จำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด 4.22 ใบ/ชิ้นส่วนพืช และมีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 2.56 ราก/ชิ้นส่วนพืช (ตารางที่ 4.7) เมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนที่ไม่ผ่าตามยาวในอาหารเหลวสามารถชักนำต้นอ่อนให้มีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 3.71 ซม. และมีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด 1.68 ซม. ซึ่งยอดที่เกิดใหม่จะเกิดขนานเป็นแนวเดียวกัน ใบรูปร่างรีคล้ายใบหอก มีสีเขียวตลอดแผ่นใบ กาบใบสีเขียว ยอดที่เกิดใหม่ในอาหารเหลวมีขนาดของยอดใหญ่กว่ายอดที่เกิดใหม่ในอาหารแข็ง และรากที่เกิดมีลักษณะเป็นเส้นผอมบาง มีสีขาวตลอดทั้งราก และเมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนที่ผ่าตามยาวในอาหารเหลว พบว่ายอดที่เกิดใหม่มีลำต้นผอม ใบเล็ก (ภาพที่ 4.11) เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่าจำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

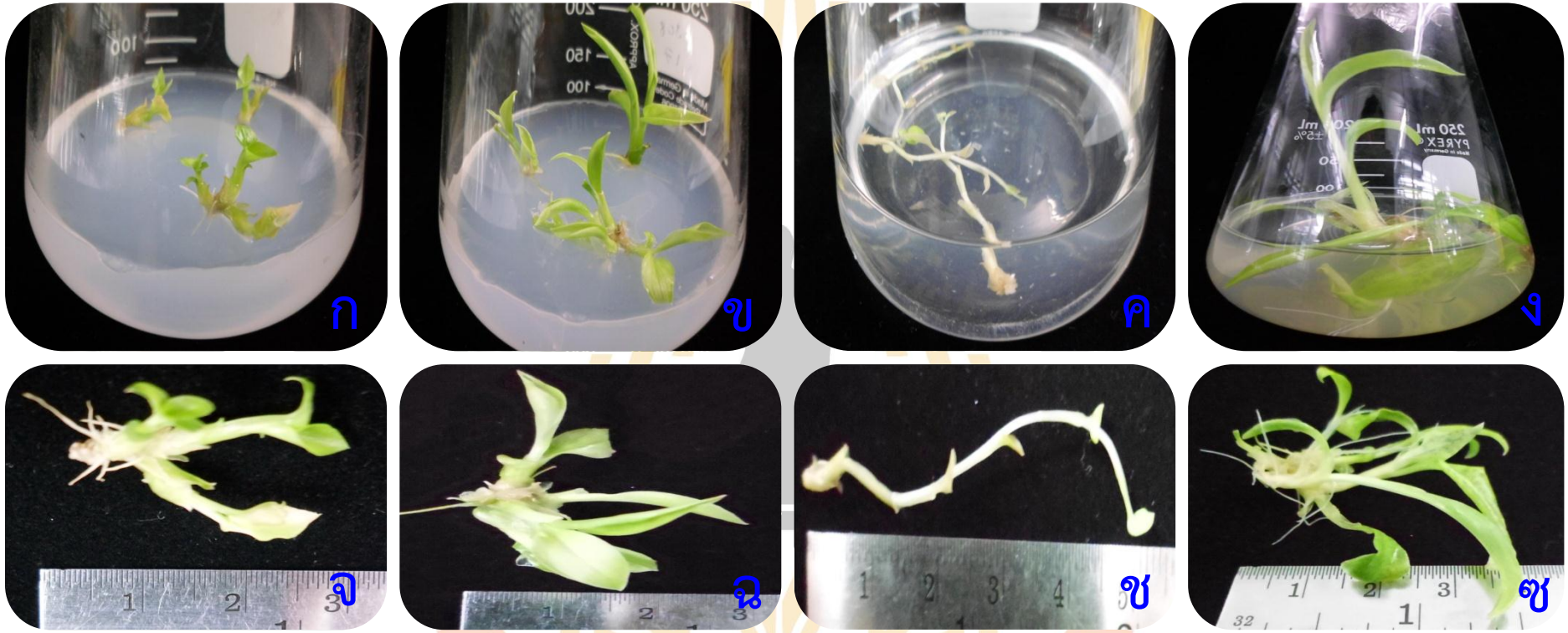
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4.7 ผลของชนิดอาหารต่อการเพิ่มจำนวนยอดและรากของกระเจียวขาวในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 0.5 มก/ล ร่วมกับ IBA 0.5 มก/ล เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

ชนิดอาหาร	การแบ่งเนื้อเยื่อตามยาว	เปอร์เซ็นต์การเกิดยอด (%)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอด/ชิ้นส่วนพืช) Mean±SE	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.) Mean±SE	จำนวนใบเฉลี่ย (ใบ/ชิ้นส่วนพืช) Mean±SE	เปอร์เซ็นต์การเกิดราก (%)	จำนวนรากเฉลี่ย (ราก/ชิ้นส่วนพืช) Mean±SE	ความยาวรากเฉลี่ย (ซม.) Mean±SE
อาหารแข็ง	ผ่า	88.89	2.56±0.73^{a}	1.30±0.36^{b}	1.78±0.80^{bc}	55.56	1.67±0.58^{ab}	0.96±0.36^{ab}
	ไม่ผ่า	100	3.44±0.69^{a}	1.77±0.33^{b}	4.22±0.76^{a}	88.89	2.56±0.67^{a}	0.97±0.19^{ab}
อาหารเหลว	ผ่า	44.44	0.44±0.18^{b}	1.64±0.82^{b}	0.67±0.37^{c}	0	0.00±0.00^{b}	0.00±0.00^{b}
	ไม่ผ่า	100	2.22±0.49^{a}	3.71±0.60^{a}	3.11±1.02^{ab}	44.44	2.78±1.41^{a}	1.68±0.82^{a}

หมายเหตุ อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



ภาพที่ 4.11 ผลของชนิดอาหารต่อการเพิ่มจำนวนยอดและรากของกระเจียวขาวเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 0.5 มก/ล ร่วมกับ IBA 0.5 มก/ล เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ก. และ จ. ผ่าเนื้อเยื่อตามยาว เพาะเลี้ยงอาหารแข็ง

ข. และ ฉ. ไม่ผ่าเนื้อเยื่อตามยาว เพาะเลี้ยงอาหารแข็ง

ค. และ ช. ผ่าเนื้อเยื่อตามยาว เพาะเลี้ยงอาหารเหลว

ง. และ ซ. ไม่ผ่าเนื้อเยื่อตามยาว เพาะเลี้ยงอาหารเหลว

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

4.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระเจียวขาว *Curcuma singularis* Gagnep.

จากการศึกษาการเพิ่มจำนวนยอดของต้นอ่อนกระเจียวขาวบนอาหารสูตร MS ร่วมกับฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 4 มก/ล TDZ ความเข้มข้น 1, 2, 3, 4 มก/ล และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มก/ล เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนของกระเจียวขาวเริ่มมีการยืดยาวในสัปดาห์ที่สองของการเพาะเลี้ยง โดยเริ่มมีใบอ่อนสีเขียวแตกออก 1-3 ใบ และในสัปดาห์ที่สามต้นอ่อนของกระเจียวขาวจึงเริ่มมีการแตกหน่อเพิ่มจำนวน ส่วนการเกิดรากมีน้อย พบมีการเกิดรากเฉพาะในบางต้น โดยต้นอ่อนของกระเจียวขาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 4 มก/ล TDZ ความเข้มข้น 2 มก/ล และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มก/ล มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 4.03 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ และ 4 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.8 และภาพที่ 4.12)

เมื่อนำยอดของกระเจียวขาวมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 4 มก/ล TDZ ความเข้มข้น 2 มก/ล และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มก/ล และน้ำมะพร้าวที่ความเข้มข้น 5, 10, 15 และ 20 มล พบว่าการเพิ่มน้ำมะพร้าวสามารถชักนำให้ยอดของกระเจียวขาวเพิ่มจำนวนได้มากขึ้น โดยการใช้น้ำมะพร้าวที่ 10 มล สามารถชักนำให้เกิดยอดได้จำนวนยอดมากที่สุด 5.33 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ แต่ทุกสูตรที่เติมน้ำมะพร้าวไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ และยอดที่เกิดขึ้นมีลักษณะสั้นอวบ ใบมีสีเขียวอ่อน (ตารางที่ 4.9 และภาพที่ 4.13)

การชักนำรากด้วยอาหารสูตร MS ร่วมกับฮอร์โมน IBA ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.5, 1 มก/ล พบว่าอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนและเติมฮอร์โมน IBA 0.2 มก/ล สามารถชักนำให้เกิดรากได้มากที่สุด 3.40 ราก/ชิ้นเนื้อเยื่อ มีความยาวสูงสุด 2.81 ซม. และ 3.67 ราก/ชิ้นเนื้อเยื่อ มีความยาวสูงสุด 2.64 ซม. ตามลำดับ นอกจากนี้การใช้ IBA ความเข้มข้นที่สูงขึ้น รากมีลักษณะอวบ เล็ก และสั้น (ตารางที่ 4.10 และภาพที่ 4.14)

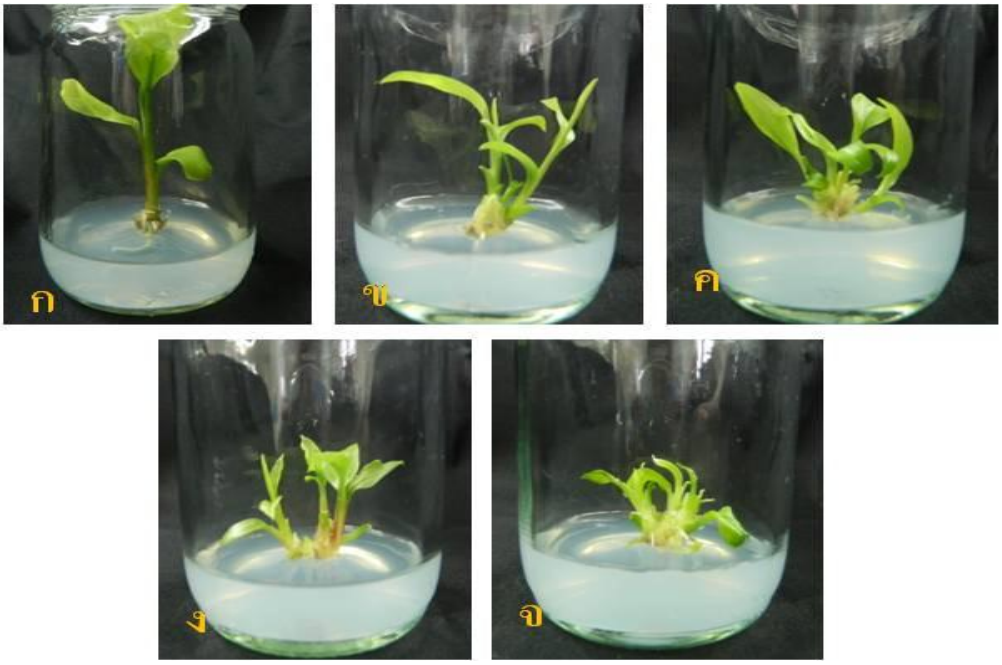
จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี DMRT พบว่า ต้นอ่อนของกระเจียวขาวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่มี BA ร่วมกับ TDZ และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน มีจำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ภายหลังการชักนำให้ต้นกระเจียวขาวมีรากสมบูรณ์และนำออกปลูกในสภาวะเรือนกระจก โดยปลูกในดินผสมแกลบดิบ (1:1) และดินผสมขุยมะพร้าว (1:1) เมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์พบว่ากระเจียวขาวที่ปลูกในดินผสมแกลบดิบมีอัตราการรอดชีวิต 94.28% และดินผสมขุยมะพร้าวมีอัตรารอด 91.42% และเมื่อผ่านไป 3 เดือน กระเจียวขาวที่ปลูกในดินผสมแกลบดิบมีอัตราการรอดชีวิต 88.57% และดิน

ผสมขุยมะพร้าวมีอัตรารอด 77.14% และพบว่าต้นกระเจียวที่ปลูกในดินผสมขุยมะพร้าวมีความยาวของต้นและการแตกใบใหม่มากกว่าต้นที่ปลูกในดินผสมแกลบดิบ (ภาพที่ 4.15 และภาพที่ 4.16)

ตารางที่ 4.8 ผลของ BA:TDZ:NAA (มก/ล) ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการเกิดยอดและรากของกระเจียวขาว *C. singularis* ภายหลัง 4 สัปดาห์ของการเพาะเลี้ยง

สูตรอาหาร (มก/ล)			จำนวนยอดเฉลี่ย	ความยาวยอดเฉลี่ย	จำนวนรากเฉลี่ย	ความยาวรากเฉลี่ย
BA	TDZ	NAA				
4	1	0.5	3.47	1.56	1.33	0.59
4	2	0.5	4.03	1.39	2	0.52
4	3	0.5	4	1.19	1.67	0.57
4	4	0.5	3.87	1.22	1	0.5

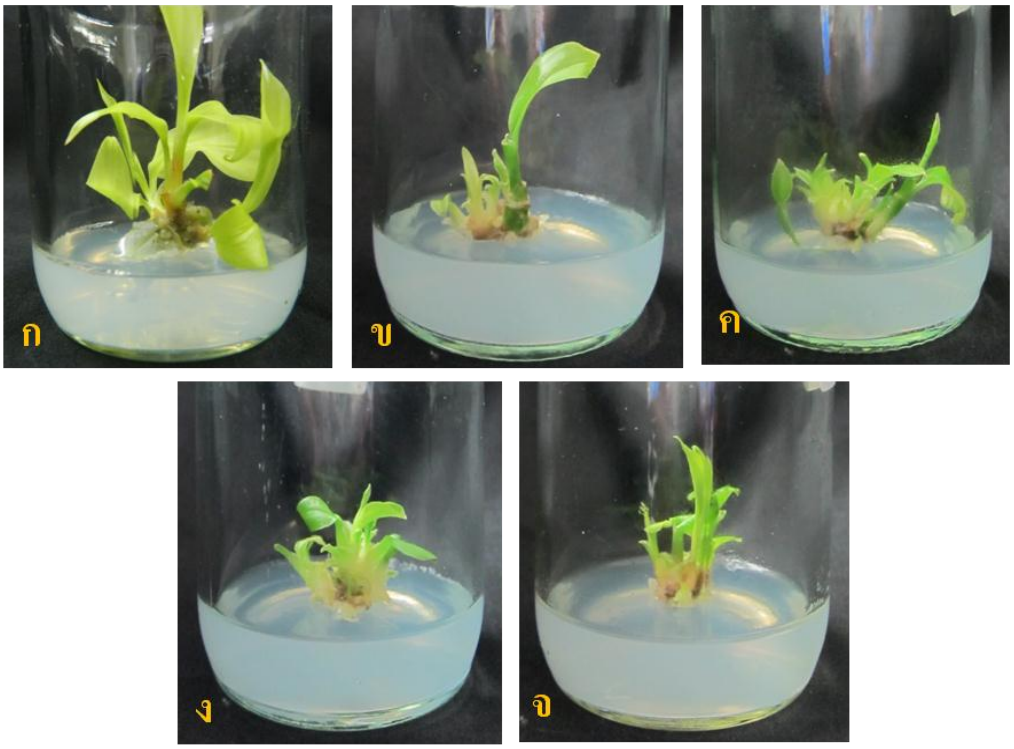


ภาพที่ 4.12 ลักษณะยอดและรากของกระเจียวขาว *C. singularis* ที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน BA:TDZ:NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0:0:0 (ก), 4:1:0.5 (ข), 4:2:0.5 (ค), 4:3:0.5 (ง), 4:4:0.5 (จ) มก/ล เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ตารางที่ 4.9 ผลของ BA:TDZ:NAA (มก/ล) ร่วมกับการใช้น้ำมะพร้าวความเข้มข้น 5%, 10%, 15% และ 20% กระเจียวขาว *C. singularis* ภายหลัง 4 สัปดาห์ของการเพาะเลี้ยง

สูตรอาหาร (มก/ล)	น้ำมะพร้าว (%)	จำนวนยอดเฉลี่ย	ความยาวยอดเฉลี่ย	จำนวนรากเฉลี่ย	ความยาวรากเฉลี่ย
MS+BA:TDZ:NAA (4:2:0.5)	0	4.03	1.39	2	0.52
	5	4.33	1.42	-	-
	10	5.23	1.15	-	-
	15	4.9	1.31	-	-
	20	4.3	0.84	-	-

หมายเหตุ - = ไม่เกิดราก

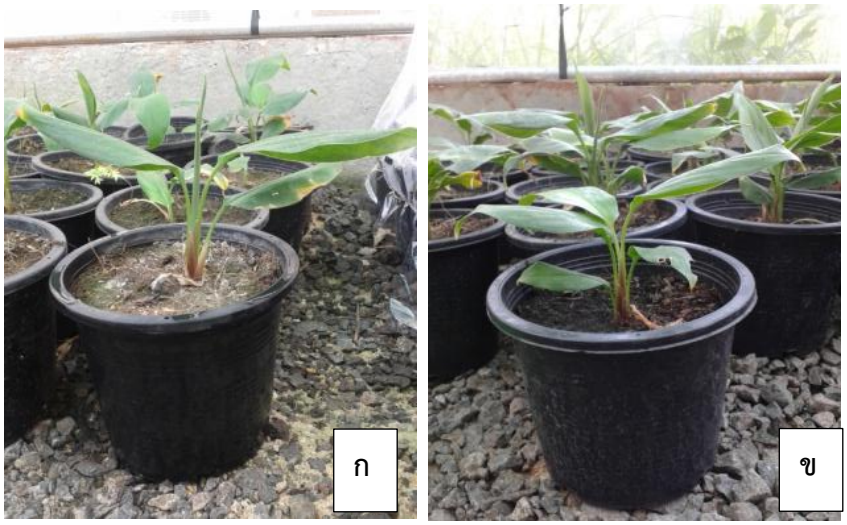


ภาพที่ 4.13 ลักษณะยอดและรากของกระเจียวขาว *C. singularis* ที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน BA:TDZ:NAA (4:2:0.5 มก/ล) ร่วมกับกับการใช้น้ำมะพร้าวความเข้มข้น 0% (ก), 5% (ข), 10%(ค), 15% (ง), 20% (จ) เป็นเวลา 4 สัปดาห์

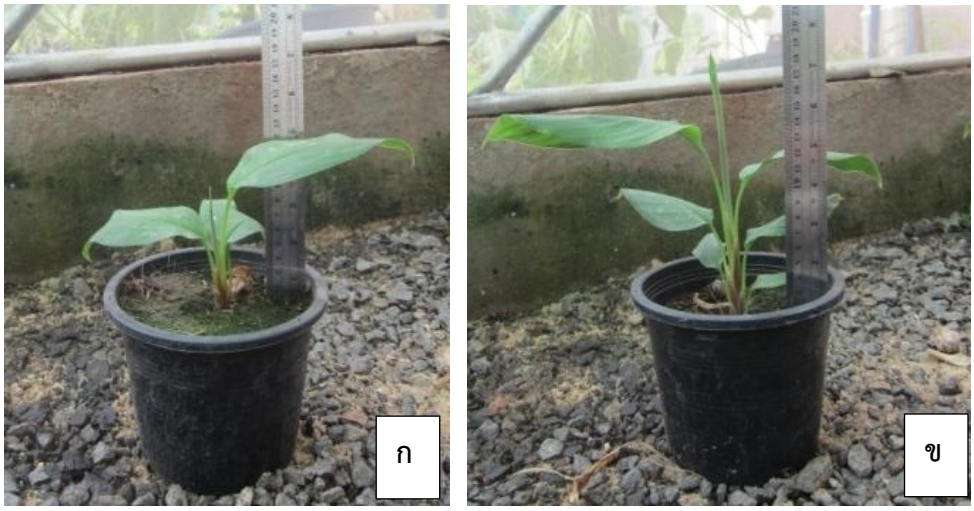
ตารางที่ 4.10 ผลของ IBA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันต่อการเกิดรากของกระเจียวขาว *C. singularis* ภายหลัง 4 สัปดาห์ของการเพาะเลี้ยง

IBA (มก/ล)	จำนวนรากเฉลี่ย	ความยาวรากเฉลี่ย
0	3.40	2.89
0.2	3.85	2.71
0.5	2.71	1.27
1.0	3.05	1.67

ภาพที่ 4.14 ลักษณะรากของกระเจียวขาว *C. singularis* ที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน IBA แตกต่างกัน IBA 0 (ก), IBA 0.2 (ข), IBA 0.5 (ค), IBA 1 (ง) มก/ล เป็นเวลา 4 สัปดาห์



ภาพที่ 4.15 ลักษณะต้นกระเจียวขาว *C. singularis* เมื่อนำออกปลูกในสภาวเรือนกระจกอายุ 4 สัปดาห์ ดินผสมแกลบดิบ (ก) ดินผสมขุย,tพร้าว (ข)



ภาพที่ 4.16 ลักษณะต้นกระเจียวขาว *C. singularis* เมื่อนำออกปลูกในสภาวะเรือนกระจกอายุ 3 เดือน ดินผสมแกลบดิบ (ก) ดินผสมขุยมะพร้าว (ข)

4.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านชักมดลูก *Curcuma xanthorrhiza* Roxb.

จากการศึกษาการเพิ่มจำนวนยอดของต้นอ่อนว่านชักมดลูกบนอาหารสูตร MS ร่วมกับฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 2 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ายอดของว่านชักมดลูกสามารถเพิ่มจำนวนได้มากที่สุด 3.39 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ ความยาวยอดเฉลี่ย 3.53 ซม. จำนวนรากเฉลี่ย 6.04 ราก/ชิ้นเนื้อเยื่อ ความยาวรากเฉลี่ย 1.84 ซม. โดยใบที่แตกออกมาใหม่มีสีเขียวเข้มและรากเจริญดี มีลักษณะยาว เรียว บางต้นมีลักษณะอวบ และมีขนราก (ตารางที่ 4.11 และภาพที่ 4.17)

ตารางที่ 4.11 ผลของ BA (2 มก/ล) ต่อการเกิดยอดของว่านชักมดลูก ภายหลัง 4 สัปดาห์ของการเพาะเลี้ยง

ฮอร์โมน (มก/ล)	จำนวนยอดเฉลี่ย	ความยาวยอดเฉลี่ย	จำนวนรากเฉลี่ย	ความยาวรากเฉลี่ย
MS+BA (2)	3.39	3.53	6.04	1.84

ภาพที่ 4.17 ลักษณะยอดและรากของว่านชักมดลูกบนอาหารสูตร MS+BA 2 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

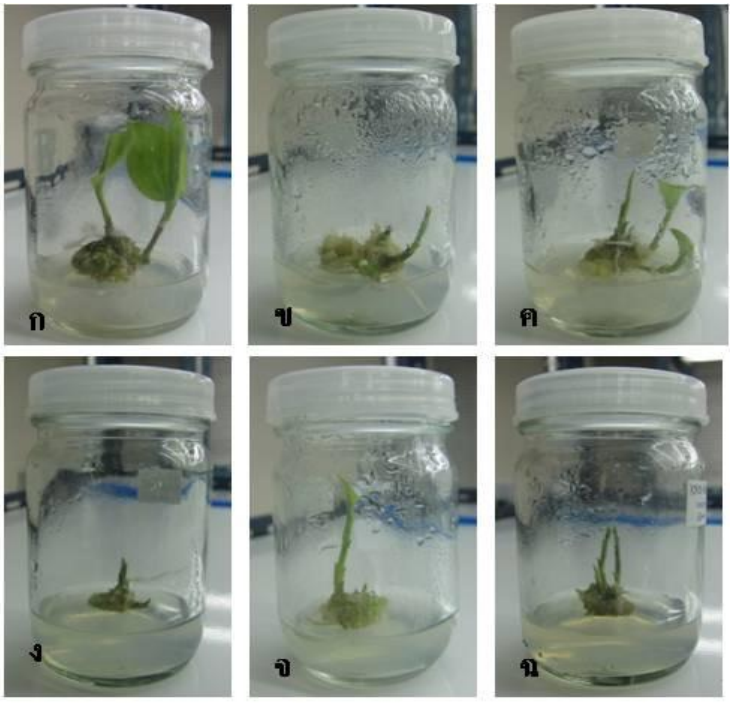
4.5 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระทือ *Zingiber zerumbet* (L.) Smith.

จากการศึกษาการเพิ่มจำนวนยอดของต้นอ่อนกระทือบนอาหารสูตร MS ร่วมกับฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 2 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่ายอดของกระทือไม่เจริญยืดยาวและไม่เพิ่มจำนวนยอดแต่เมื่อนำยอดกระทือย้ายมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับการใช้ฮอร์โมน BA:TDZ:NAA ที่ความเข้มข้น 2:2:0.5 มก/ล พบว่ายอดของกระทือไม่เจริญพัฒนาเป็นยอดแต่เกิดแคลลัสสีเขียวเกาะกลุ่มกันแน่น และเมื่อนำแคลลัสที่ได้มาวางบนอาหารสูตร MS ร่วมกับการใช้ฮอร์โมน BA, IAA, IBA, KN น้ำมะพร้าวที่ความเข้มข้น 20% และ proline, casein ที่ความเข้มข้น 500 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์พบว่า แคลลัสของกระทือที่วางบนอาหารสูตร MS ร่วมกับการใช้ฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 8 มก/ล และ IBA ความเข้มข้น 6 มก/ล สามารถชักนำให้แคลลัสของกระทือเกิดยอดได้มากที่สุด 2.5 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ (ตารางที่ 4.12 และภาพที่ 4.18) แต่เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์พบว่า อาหารสูตร MS ร่วมกับการใช้ฮอร์โมน KN ที่ความเข้มข้น 2 มก/ล น้ำมะพร้าว 20% และ proline 500 มก/ล สามารถชักนำให้แคลลัสของกระทือเกิดยอดได้มากที่สุด 3.44 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ ยอดมีการเจริญยืดยาวดี มีใบเกิดขึ้น 2-3 ใบ และรากมีขนรากเกิดขึ้นรอบๆ ราก (ตารางที่ 4.13 และภาพที่ 4.19)

การนำน้ำมะพร้าวมาช่วยให้แคลลัสของกระทือเกิดยอดสอดคล้องกับการศึกษาของ Tefera and Wannakrairoj, 2004 ใน *Aframomum corrorima* (Braun) Janse, Yusuf et al. (2011*)* ใน *Boesenbergia rotunda* (L.), Loc et al. (2005) ใน *Curcuma zedoaria* Roscoe. ส่วนการนำ proline มาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชวงศ์ขิงไม่พบมีรายงานการศึกษามาก่อนพบพียงการใช้ proline กับพืชชนิดอื่นเช่น ข้าว (Kumar and Ajinder, 2013) *Miscanthus* x *ogiformis* (Holme *et al*., 1997)

ตารางที่ 4.12 ผลของ BA, IAA, IBA, KN น้ำมะพร้าวที่ความเข้มข้น 20% และ proline, casein ที่ความเข้มข้น 500 มก/ล ต่อการเกิดยอดของกระทือ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ฮอร์โมน (มก/ล)	จำนวนยอด	ความยาวยอด	%การเกิดยอด	จำนวนราก	ความยาวราก	%การเกิดราก
MS+IBA:BA (6:8)	2.5	1.99	50	4.2	12.9	58.33
MS+IAA:BA (0.5:3)	1.25	2.5	33.33	4	2.72	33.33
MS+BA 2 มก/ล+proline 500 มก/ล	1.8	2.56	41.66	3.8	2.02	41.66
MS+BA 2 มก/ล+casein 500 มก/ล	1.5	1	16.66	2	1.75	16.66
MS+20% น้ำมะพร้าว+KN 2 มก/ล +proline 500 มก/ล	1.5	1.75	33.33	3.5	1.5	16.66
MS+20% น้ำมะพร้าว+KN 2 มก/ล +casein 500 มก/ล	1.8	1.61	33.33	8	2.62	8.33



ภาพที่ 4.18 ลักษณะยอดของกระทือบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับการใช้ฮอร์โมนแตกต่างกัน ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

(ก) IBA:BA (6:8 มก/ล)

(ข) IAA:BA (0.5:3 มก/ล)

(ค) BA 2 มก/ล+proline 500 มก/ล

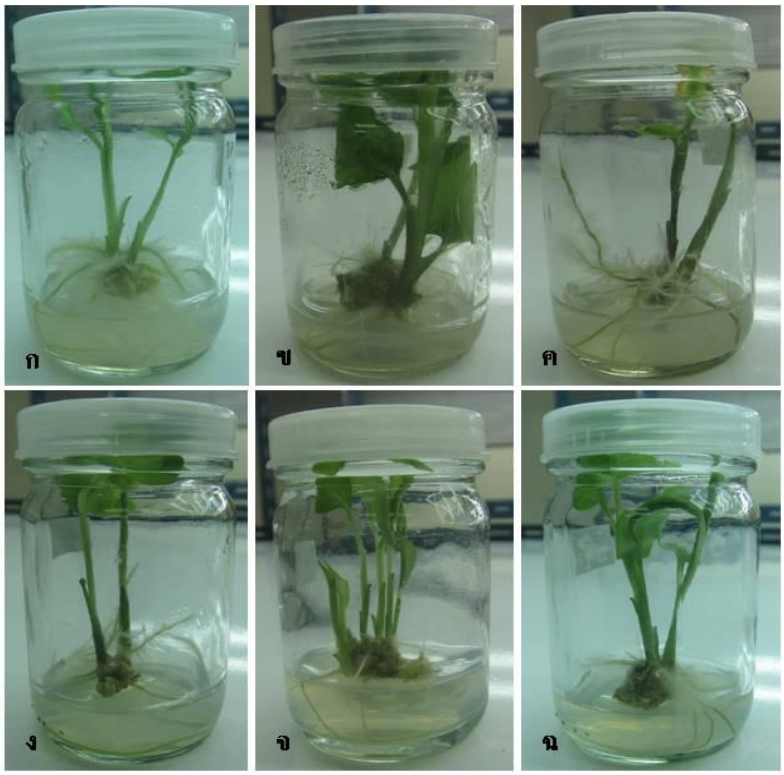
(ง) BA 2 มก/ล+casein 500 มก/ล

(จ) 20% น้ำ มะพร้าว+KN 2 มก/ล +proline 500 มก/ล

(ฉ) 20% น้ำมะพร้าว+KN 2 มก/ล +casein 500 มก/ล

ตารางที่ 4.13 ผลของ BA, IAA, IBA, KN น้ำมะพร้าวที่ความเข้มข้น 20% และ proline, casein ที่ความ เข้มข้น 500 มก/ล ต่อการเกิดยอดของกระทือ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ฮอร์โมน (mg/l)	จำนวนยอด	ความยาวยอด	%การเกิดยอด	จำนวนราก	ความยาวราก	%การเกิดราก
MS+IBA:BA (6:8)	2.77	4	75	5.44	3.91	75
MS+IAA:BA (0.5:3)	2.33	4.94	50	6.6	8.18	50
MS+BA 2 มก/ล+proline 500 มก/ล	2.4	6.88	50	6.57	5.37	58.33
MS+BA 2 มก/ล+casein 500 มก/ล	2.33	4.69	50	5	3.48	58
MS+20% น้ำมะพร้าว+KN 2 มก/ล +proline 500 มก/ล	3.44	6.06	75	7.22	6.66	75
MS+20% น้ำมะพร้าว+KN 2 มก/ล +casein 500 มก/ล	2.25	4.83	50	6.25	6.8	50



ภาพที่ 4.19 ลักษณะยอดของกระทือบนสูตรอาหาร MS ร่วมกับการใช้ฮอร์โมนแตกต่างกัน ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

(ก) IBA:BA (6:8 มก/ล)

(ข) IAA:BA (0.5:3 มก/ล)

(ค) BA 2 มก/ล+proline 500 มก/ล

(ง) BA 2 มก/ล+casein 500 มก/ล

(จ) 20% น้ำ มะพร้าว+KN 2 มก/ล +proline 500 มก/ล

(ฉ) 20% น้ำมะพร้าว+KN 2 มก/ล +casein 500 มก/ล

ผลศึกษาการย้ายกระทือออกปลูกในวัสดุปลูกที่เหมาะสม (8 สัปดาห์)

นำต้นกระทือที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 2 มก/ล (อายุ 3 เดือน) นำมาปรับสภาพก่อนย้ายออกปลูกเป็นเวลา 2 สัปดาห์ นำต้นกระทือที่ปรับสภาพแล้วมาล้างวุ้นออกให้สะอาด นำมาแช่น้ำยากันรา จากนั้นนำต้นพืชไปปลูกในวัสดุปลูกที่เตรียมไว้ ได้แก่

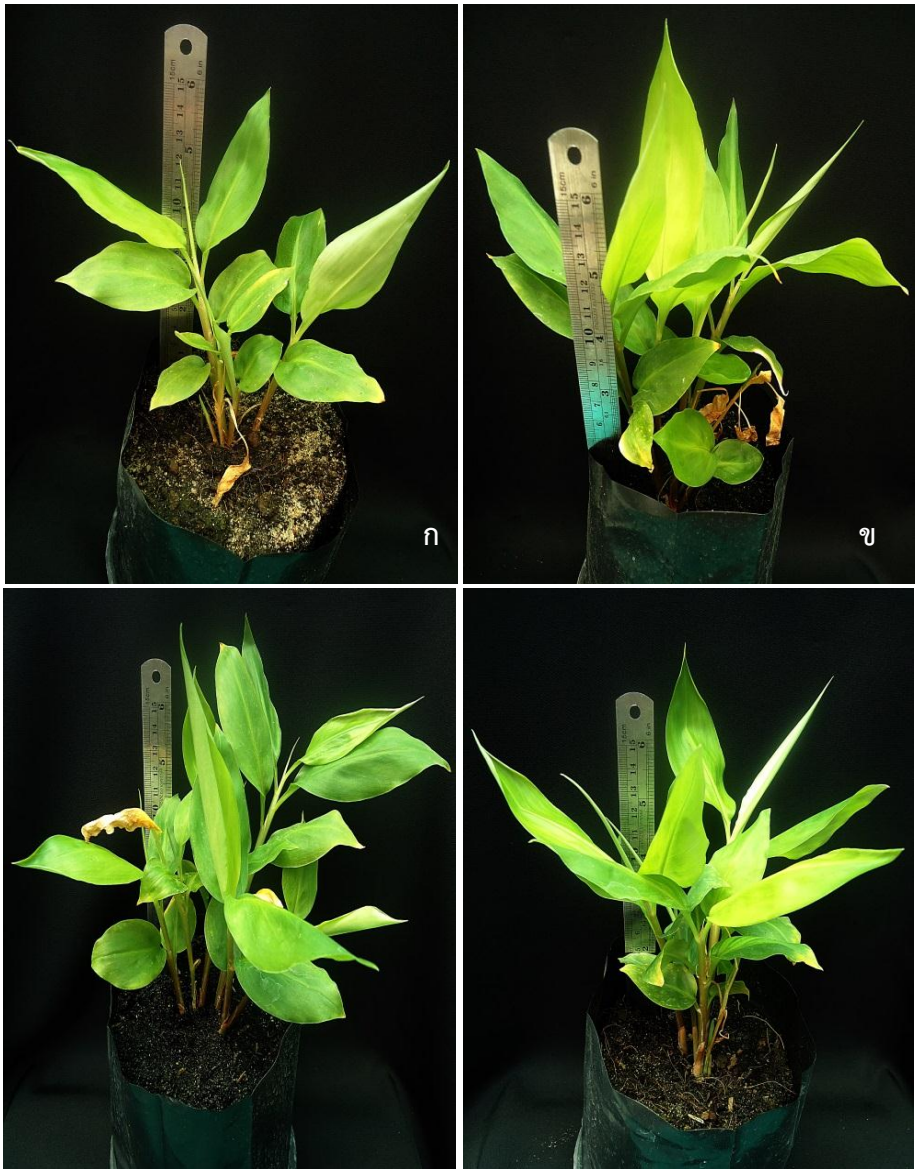
1. ดินปลูก : ทราย ในอัตราส่วน 1 : 1
2. ดินปลูก : แกลบเผา ในอัตราส่วน 1 : 1
3. แกลบเผา : ทราย ในอัตราส่วน 1 : 1
4. ดินปลูก : แกลบเผา : ทราย ในอัตราส่วน 1 : 1 : 1

ทำการทดลองปลูกกระทือในวัสดุปลูกดังที่กล่าวมาข้างต้นอย่างละ 20 ถุง ถุงละ 3 ต้น เก็บผลทุก 4 สัปดาห์ บันทึกอัตราการรอดชีวิต จำนวนยอดเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ย และความยาวยอดเฉลี่ย

จากการย้ายต้นกระทือออกปลูกในวัสดุปลูกดังที่กล่าวมาข้างต้นเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าต้นกระทือที่ย้ายออกปลูกในวัสดุปลูก ได้แก่ ดินปลูก : แกลบเผา, แกลบเผา : ทราย และ ดินปลูก : แกลบเผา : ทราย มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด คือ 100% (ตารางที่ 4.14) ส่วนต้นกระทือที่ย้ายออกปลูกในวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของ ดินปลูก : ทราย มีอัตราการรอดชีวิต 95% (ตารางที่ 4.14) หลังจากย้ายออกปลูกได้ 8 สัปดาห์ ต้นกระทือมีลำต้นใหญ่ขึ้น ใบมีสีเขียวขนาดใหญ่ แผ่แบน การเรียงตัวของใบเรียงแบบสลับ ต้นกระทือที่ย้ายออกปลูกในวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของ ดินปลูก : แกลบเผา : ทราย มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงที่สุด 6.70 ยอด โดยลำต้นใหญ่ โคนกาบใบมีสีแดง ใบสีเขียว แผ่แบนเห็นเส้นใบชัดเจน ใบเรียงตัวกันแบบสลับและมีความยาวยอดเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 4.20 ง) รองลงมาคือ ต้นกระทือที่ย้ายออกปลูกในวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของ แกลบเผา : ทราย และ ดินปลูก : แกลบเผา มีจำนวนยอดเฉลี่ย 5.95 และ 5.30 ยอด ตามลำดับ (ภาพที่ 4.20 ค และ ข) ส่วนต้นกระทือที่ย้ายออกปลูกในวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของ ดินปลูก : ทราย มีจำนวนยอดเฉลี่ยต่ำที่สุด 3.90 ยอด (ภาพที่ 4.20 ก)

ตารางที่ 4.14 ต้นกระทือที่ย้ายออกปลูกในวัสดุปลูกต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

วัสดุปลูก	อัตราการรอดชีวิต (%)	จำนวนยอดเฉลี่ย	ความยาวยอดเฉลี่ย (ซม.)	จำนวนใบเฉลี่ย
ดินปลูก : ทราย	95%	3.90±0.42^{c}	9.74±0.75^{a}	3.66±0.25^{a}
ดินปลูก : แกลบเผา	100%	5.30±0.31^{b}	10.45±0.50^{a}	4.00±0.16^{a}
แกลบเผา : ทราย	100%	5.95±0.29^{ab}	10.23±0.36^{a}	3.85±0.14^{a}
ดินปลูก : แกลบเผา : ทราย	100%	6.70±0.30^{a}	11.30±0.40^{a}	3.94±0.10^{a}



ภาพที่ 4.20 ต้นกระทือที่ย้ายออกปลูกในวัสดุปลูกต่างๆ

ก. ต้นกระทือที่ย้ายปลูกในวัสดุปลูก ดินปลูก : ทราย
ข. ต้นกระทือที่ย้ายปลูกในวัสดุปลูก ดินปลูก : แกลบเผา
ค. ต้นกระทือที่ย้ายปลูกในวัสดุปลูก แกลบเผา : ทราย
ง. ต้นกระทือที่ย้ายปลูกในวัสดุปลูก ดินปลูก : แกลบเผา : ทราย

<u>หมายเหตุ</u> ต้นกระทือที่ย้ายปลูกในวัสดุปลูก ดินปลูก : ทราย รดน้ำไปเรื่อยๆมีบางต้นตาย

4.6 การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการและการวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

จากการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการและปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของต้นตูบหมูบได้จากแหล่งป่าธรรมชาติและจากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง พบว่าต้นตูบหมูบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าสองเท่า แต่มีปริมาณไขมันและไฟเบอร์ต่ำกว่าต้นตูบหมูบที่ได้จากป่าธรรมธรรมชาติ นอกจากนี้ยังพบว่าต้นตูบหมูบที่จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองมีปริมาณคลอโรฟิลล์และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระหรือสารแอนตี้ออกซิแดนซ์สูงกว่า (ตารางที่ 4.15)

ตารางที่ 4.15 ปริมาณโปรตีน ไขมัน ไฟเบอร์ คลอโรฟิลล์และสารแอนตี้ออกซิแดนซ์ของต้นตูบหมูบที่ได้จากแหล่งป่าธรรมชาติและจากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง (n=3)

แหล่ง	Protein	Fat	Fiber	คลอโรฟิลล์ a	คลอโรฟิลล์ b	คลอโรฟิลล์รวม	แอนตี้ออกซิแดนซ์ (mg/100g)
ป่าธรรมชาติ	14.02%	2.64%	19.95%	0.11	0.08	0.14	401.86
ในหลอดทดลอง	32.39%	2.38%	15.61%	0.09	0.59	0.68	422.48

4.7 ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยเทคนิคอาร์เอพีดี (Random Amplified Polymorphic DNA; RAPD)

4.7.1 ปริมาณและคุณภาพของดีเอ็นเอของกระเจียวขาว *C. parviflora*

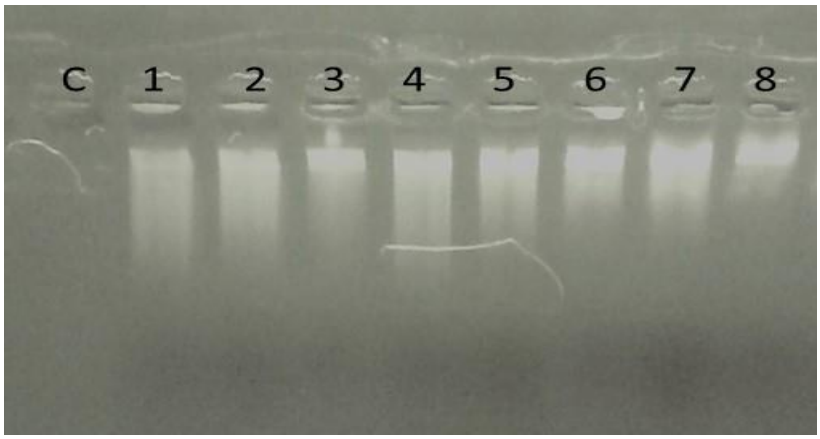
จากการตรวจสอบปริมาณและคุณภาพของดีเอ็นเอที่ได้จากการสกัดจีโนมิกส์ดีเอ็นเอของกระเจียวขาว *C. parviflora* จำนวน 8 ต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทอลอง 4 ต้นและจากต้นในป่าธรรมชาติ 4 ต้น นำดีเอ็นเอที่ได้มาแยกโดยเทคนิคเจลอิเล็กโตรโฟรีซิสในความเข้มข้นอะกาโรสเจล 1% และย้อมด้วย MeestroSafe ^{Tm} dye และวัดปริมาณดีเอ็นเอด้วยเครื่องนาโนดรอป (NanoDrop) พบว่าดีเอ็นเอที่สกัดได้มีอัตราส่วน A260/A280 อยู่ระหว่าง 1.73-2.31 และค่า

A260/A230 อยู่ระหว่าง 0.55-2.78 และมีความเข้มข้น 41-187 ng/ul (ตารางที่ 4.16) โดยดีเอ็นเอมีแถบเข้มแสดงถึงการมีคุณภาพดีเอ็นเอในระดับดี (ภาพที่ 4.21)

ตารางที่ 4.16 คุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอของกระเจียวขาว *C. parviflora* จำนวน 8 ต้นที่ได้จากเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองและจากป่าธรรมชาติ

ตัวอย่างที่	แหล่งที่มา	A260	A280	260/280	260/230	ความเข้มข้น ng/ul
1C	มหาสารคาม	0.820	0.454	1.81	1.31	41.0
2C	มหาสารคาม	1.590	0.915	1.74	1.51	79.5
3C	มหาสารคาม	1.076	0.623	1.73	1.05	53.8
4C	มหาสารคาม	2.087	1.120	1.86	1.15	104.3
5 N	มหาสารคาม	3.566	1.601	2.23	0.55	178.3
6 N	มหาสารคาม	1.606	0.856	1.88	0.86	80.3
7 N	มหาสารคาม	3.648	1.861	1.98	1.00	184.2
8 N	นครราชสีมา	3.741	1.846	2.03	0.93	187.0

หมายเหตุ: C= In vitro N=nature

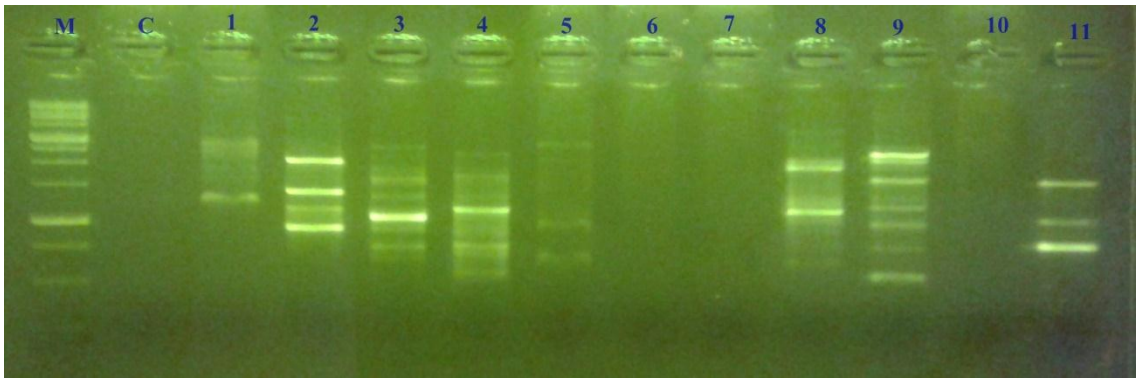


ภาพที่ 4.21 การตรวจสอบคุณภาพของจีโนมิกส์ดีเอ็นเอของกระเจียวขาวจำนวน 8 ตัวอย่าง

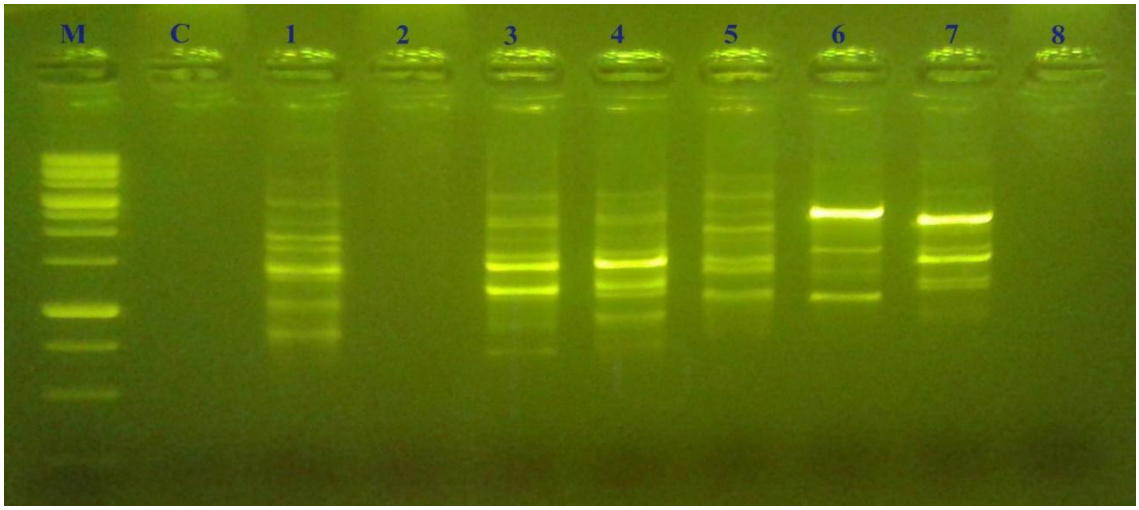
4.7.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรม

ทำการประเมินไพรเมอร์อาร์เอพีดี จำนวน 11 ไพรเมอร์ว่าสามารถเพิ่มจำนวนแถบดีเอ็นเอในพืชวงศ์ขิงได้หรือไม่ พบว่ามีจำนวน 7 ไพรเมอร์ที่สามารถเพิ่มจำนวนแถบดีเอ็นเอในกระเจียวขาวได้ คือ S5, S10, S29, OPF14, OPX1, OPX2 และ OPX14 (ภาพที่ 4.22) เมื่อนำไพรเมอร์เหล่านี้มาเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอในกระเจียวขาวพบว่ามีเพียง 4 ไพรเมอร์ที่เพิ่มจำนวนแถบดีเอ็นเอได้และไม่มีปัญหาการปนเปื้อน ได้แก่ S10, S29, OPX2, OPX14 โดยพบจำนวนแถบดีเอ็นเอ 31 แถบ และไม่พบแถบดีเอ็นเอที่เป็น monomorphic (ตารางที่ 4.17 ภาพที่ 4.23-4.26) จำนวนอัลลีลต่อโลคัสอยู่ระหว่าง 5-12 โดยไพรเมอร์ S10 มีจำวนอัลลีลสูงสุด 12 และไพรเมอร์ S5 มีจำนวนอัลลีลต่ำสุดเท่ากับ 5 ขนาดของแถบดีเอ็นเออยู่ในช่วง 328-1512 bp เพื่อคำนึงถึงประสิทธิภาพในการแยกแยะความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยพิจารณาจากค่า PIC มีค่าระหว่าง 0.94-0.99 ถือว่ามีประสิทธิภาพสูง เทียบจากการรายงานของ Yu et al. (2012) ที่ว่าค่า PIC มีประสิทธิภาพสูงหากมีค่ามากกว่า 0.5 ดังนั้นทั้ง 4 ไพรเมอร์มีประสิทธิภาพสูง

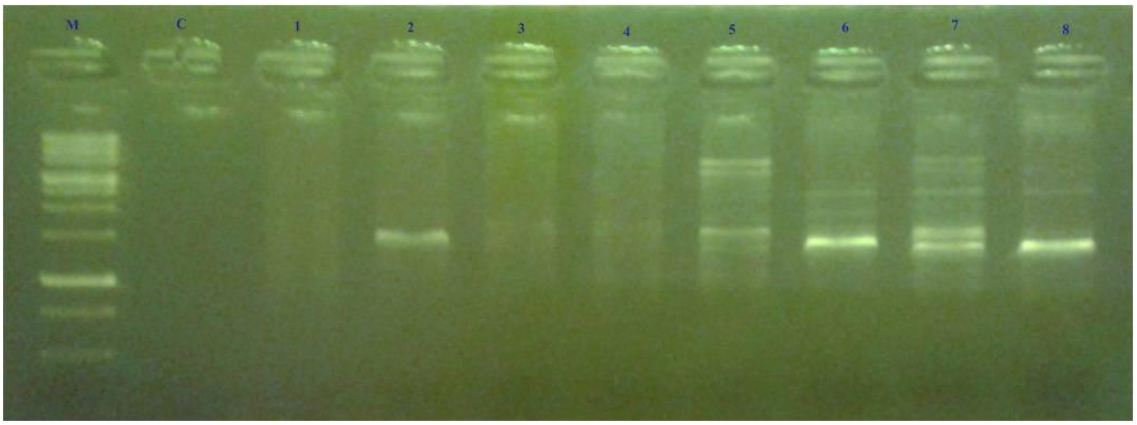
จากการวิเคราะห์การจัดกลุ่ม (UPGMA cluster analysis) โดยใช้โปรแกรม NYSYSpc version 2.0 ทำให้แบ่งกลุ่มต้นกระเจียวขาวออกเป็นสามกลุ่ม (ภาพที่ 4.27) โดยกลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย ต้นพืชตัวอย่างที่ 8 กลุ่มที่สอง ประกอบด้วยต้นพืชตัวอย่างที่ 2, 3, 4, 5, 7 และกลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยต้นพืชตัวอย่างที่ 1, 6 ความแตกต่างที่เกิดขึ้นนี้ อาจเนื่องจากพืชชนิดนี้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง ต้นที่ได้จากแหล่งป่าธรรมชาติในจังหวัดนครราชสีมา (ต้นที่ 8) แตกต่างจากต้นพืชตัวอย่างอื่นๆ ซึ่งได้จากแหล่งป่าธรรมชาติจากจังหวัดมหาสารคาม โดยต้นที่ 1-4 นำมาทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองโดยมีต้นแม่จากแหล่งป่าธรรมชาติจากจังหวัดมหาสารคามเช่นกัน



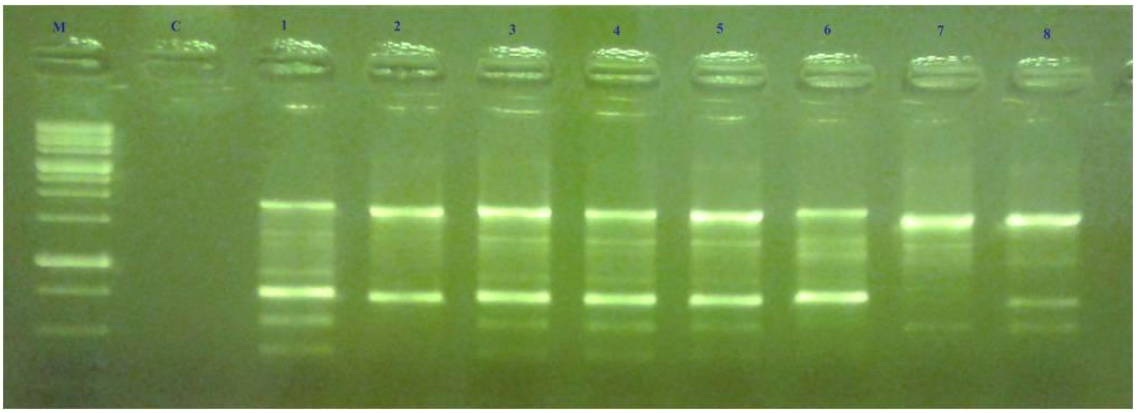
ภาพที่ 4.22 แถบดีเอ็นเอจากการประเมินไพรเมอร์อาร์เอพีดีในกระเจียวขาวจำนวน 11 ไพรเมอร์ M = 100 bp DNA marker, C = control, 1 = S5, 2 = S10, 3 = S29, 4 = OPF4, 5 = OPF10 6 = OPF13, 7 = OPF19, 8 = OPX1, 9 = OPX2, 10 = OPX13, และ 11 = OPX14



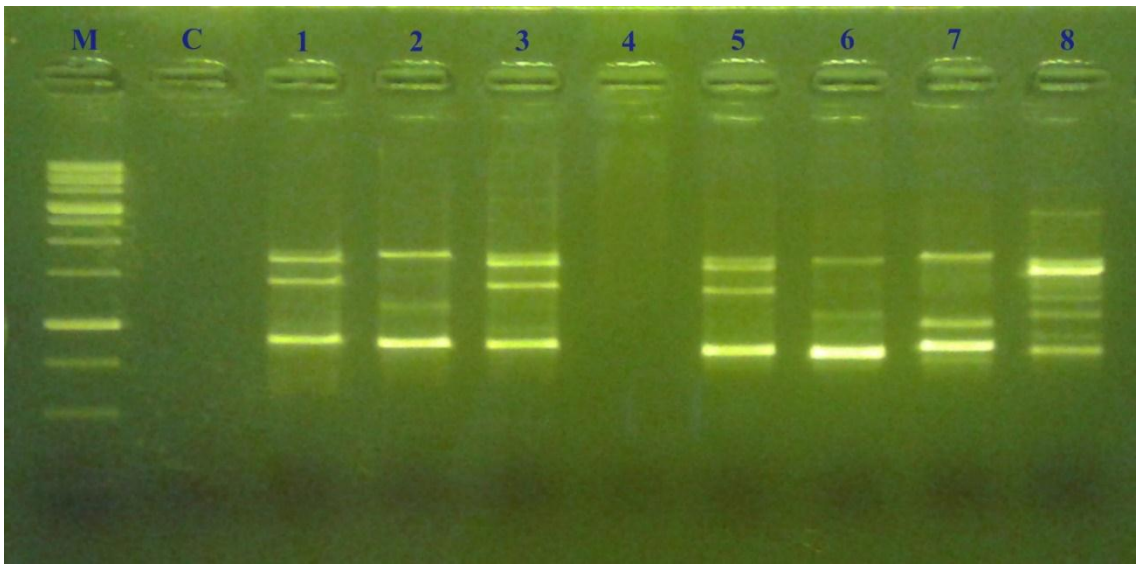
ภาพที่ 4.23 แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้จากการใช้ไพรเมอร์ S10 (M = 100 bp DNA ladder)



ภาพที่ 4.24 แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้จากการใช้ไพรเมอร์ S29 (M = 100 bp DNA ladder)



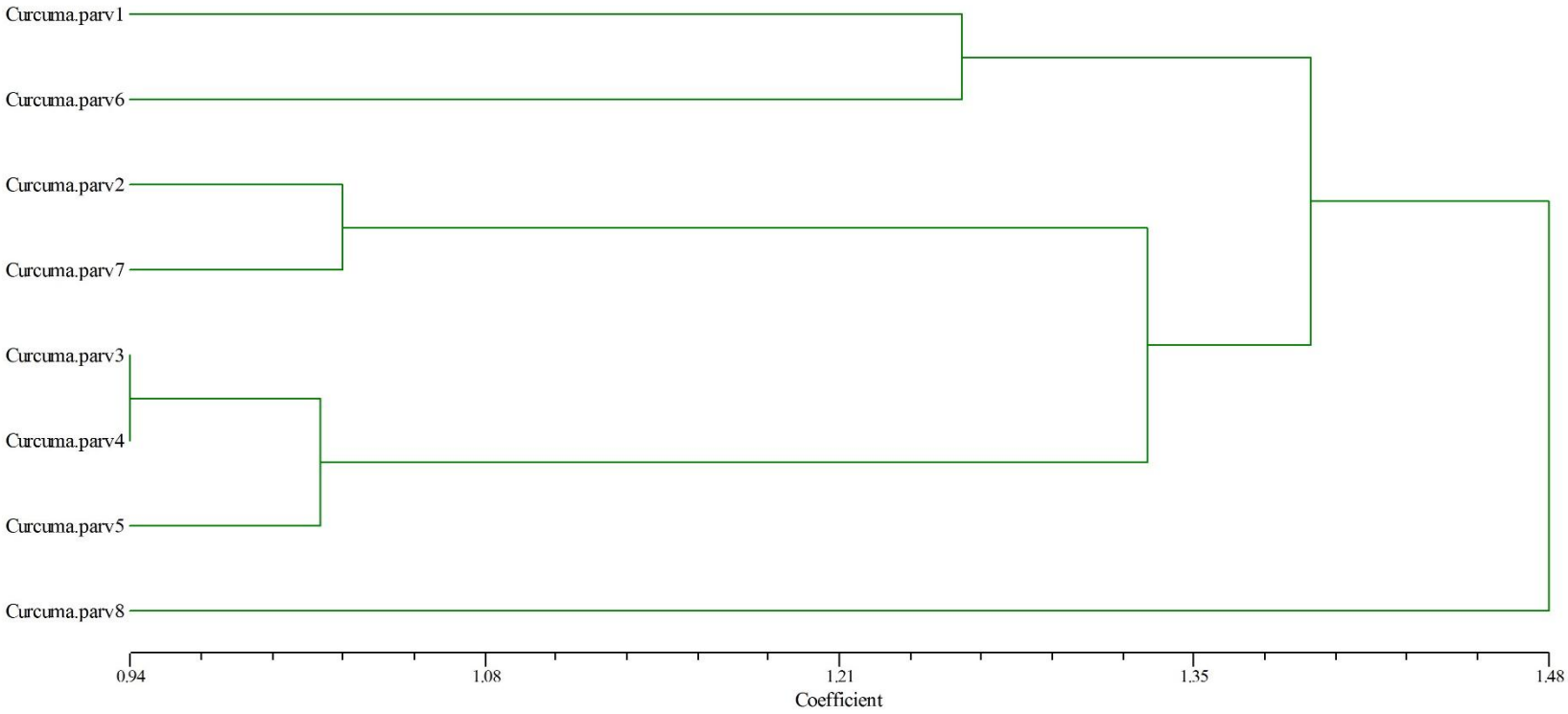
ภาพที่ 4.25 แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPX2 (M = 100 bp DNA ladder)



ภาพที่ 4.26 แถบดีเอ็นเอที่เพิ่มจำนวนได้จากการใช้ไพรเมอร์ OPX14 (M = 100 bp DNA ladder)

ตารางที่ 4.17 ไพรเมอร์อาร์เอพีดี ลำดับเบส จำนวนอัลลีล ขนาดของแถบดีเอ็นเอ polymorphic bands และ monomorphic bands และค่า PIC

Primer name	Sequence 5'-3'	Number of alleles	Band range (bp)	Polymorphic bands	Monomorphic bands	PIC
S10	CTGCTGGGAC	12	529-1512	12	-	0.99
S29	GGGTAACGCC	5	585-1255	5	-	0.97
OPX2	TTCCGCCACC	6	328-690	6		0.98
OPX14	ACAGGTGCTG	8	449-683	8	-	0.94
เฉลี่ย						0.97



ภาพที่ 4.27 เดนโดรแกรมของกระเจียวขาวจำนวน 8 ต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองและจากต้นในธรรมชาติโดยการวิเคราะห์ UPGMA cluster analysis แสดง relative similarity ที่ได้จากเครื่องหมาย RAPD

บทที่ 5
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตูบหมูบ (*Kaempferia marginata* Carey ex Roscoe.)

ศึกษาเปรียบเทียบวิธีการฟอกฆ่าเชื้อเหง้าตูบหมูบเมื่อนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 25% เวลา 25 นาที ตามด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 20% เวลา 20 นาที มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อมากที่สุด 40% การทดลองครั้งนี้ใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ในการฟอกฆ่าเชื้อ เพื่อขจัดและลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ และเชื้อโรคต่างๆ ซึ่งข้อดีของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ คือไม่ระเหย และไม่มีพิษ ราคาไม่แพง มีจำหน่ายตามท้องตลาด แต่ถ้าใช้มากเกินไปอาจเป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อ หรืออวัยวะของพืชได้ ซึ่งประสิทธิภาพการฟอกฆ่าเชื้อขึ้นอยู่กับการตอบสนองต่อเวลา ปริมาณที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ สอดคล้องกับรายงานการศึกษา Stanly and Chan (2007) นำตาเหง้า *Curcuma zedoaria* Roscoe และ *Zingiber zerumbet* Smith มาฟอกฆ่าเชื้อด้วยเมอร์คิวริคคลอไรด์ 100 มก/ล เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำตาเหง้ามาฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 20% เป็นเวลา 10 นาที และย้ายตาเหง้ามาฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 10% เป็นเวลา 10 นาที พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อจุลินทรีย์และมีการรอดชีวิตมากกว่า 80%

ศึกษาผลของฮอร์โมน BA ร่วมกับ Kinetin ที่เหมาะสมต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดแคลลัส ต้นและราก โดยใช้ต้นอ่อนที่ปลอดเชื้อในหลอดทดลอง ขนาดประมาณ 1 ซม. นำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 2 มก/ล ร่วมกับ Kinetin ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1, 1.5, 2 และ 2.5 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 2 มก/ล และ Kinetin 2.5 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 80% มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.90 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.90 ซม. จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 3.50 ราก/ชิ้นส่วนพืช ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 2.05 ซม. การทดลองครั้งนี้ใช้ฮอร์โมน BA ร่วมกับ Kinetin ซึ่งทั้ง 2 ชนิดเป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโทไคนิน มีผลกระตุ้นการแบ่งเซลล์ และการเพิ่มจำนวนยอด สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Kochuthressia *et al.* (2012) ที่เพาะเลี้ยงเหง้า *K. galanga* L. บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ร่วมกับ Kinetin มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดมากที่สุด 85.7%

การศึกษาผลของฮอร์โมน BA ร่วมกับ TDZ ที่เหมาะสมต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดแคลลัส ต้นและราก โดยใช้ต้นอ่อนที่ปลอดเชื้อในหลอดทดลอง ขนาดประมาณ 1 ซม. นำไปเพาะเลี้ยง

ในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 2 มก/ล ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5 และ 4 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมฮอร์โมน BA 2 มก/ล ร่วมกับ TDZ 1.5, 3 และ 4 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 90% มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 4.90 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 1.94 ซม. จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 5.40 ราก/ชิ้นส่วนพืช ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 2.54 ซม. ซึ่งทั้ง 2 ชนิดเป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโทไคนิน มีผลกระตุ้นการแบ่งเซลล์ และการเพิ่มจำนวนยอด รวมทั้งมีการเกิดแคลลัสขึ้น แสดงให้เห็นว่า TDZ มีผลต่อการเกิดแคลลัสและการเพิ่มจำนวนแคลลัส สอดคล้องกับงานทดลองของ Zhang *et al.* (2011) ที่เพาะเลี้ยงตาเหง้า *Curcuma soloensis* บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ร่วมกับ BA สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ 93.3%

ศึกษาผลของฮอร์โมน TDZ ที่เหมาะสมต่อการชักนำต้นอ่อนตูบหมูบให้เกิดแคลลัส ต้นและราก โดยใช้ต้นอ่อนที่ปลอดเชื้อในหลอดทดลอง ขนาดประมาณ 1 ซม. นำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 และ 1 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมฮอร์โมน TDZ 0.7 มก/ล มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส 80% มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.20 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ความยาวยอดเฉลี่ยสูงสุด 3.28 ซม. จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด 5.80 ราก/ชิ้นส่วนพืช ความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด 2.04 ซม. ในการทดลองนี้ได้ใช้ฮอร์โมน TDZ เพียงอย่างเดียว ซึ่งเป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโทไคนิน มีผลกระตุ้นการแบ่งเซลล์ และการเพิ่มจำนวนยอด รวมทั้งมีการเกิดแคลลัสขึ้น แสดงให้เห็นว่า TDZ มีผลต่อการเกิดแคลลัสและการเพิ่มจำนวนแคลลัส สอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhang *et al.* (2011) ที่เพาะเลี้ยงตาเหง้า *Curcuma soloensis* บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ และมีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 18.7 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และ Prathanturarug *et al.* (2003) เพาะเลี้ยงตายอด *Curcuma longa* L. บนอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 18.16 ไมโครโมล เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 2.22 ยอด/ชิ้นส่วนพืช

5.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระเจียวขาว (*Curcuma parviflora*)

การฟอกฆ่าเชื้อตาเหง้ากระเจียวขาว โดยการฟอกฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 10-25% พบว่า เมื่อนำชิ้นส่วนตาเหง้ากระเจียวขาวที่ได้จากสภาพธรรมชาติ มาฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน ทั้ง 4 วิธี ไม่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในชิ้นส่วนตาเหง้าได้ มีอัตราการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ 100% เนื่องจากมีการปนเปื้อนเชื้อราและจุลินทรีย์ในดินมาก และเมื่อนำตาเหง้ากระเจียวขาวที่เกิดยอดใหม่ มาฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียม

ไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาแตกต่างกัน ทั้ง 4 วิธี พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อดีที่สุด เมื่อฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ เข้มข้น 20% เวลา 20 นาที ตามด้วยฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 2 ด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 15% เวลา 20 นาที ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อสูงที่สุด 55% เนื่องจากตาเหง้ากระเจียวขาวที่เกิดยอดใหม่ที่นำมาฟอกฆ่าเชื้อมาจากการปลูกในสภาพไร้ดินทำให้มีความสะอาดกว่าตาเหง้ากระเจียวขาวที่เก็บมาจากสภาพธรรมชาติที่ปลูกในดินเมื่อนำมาฟอกฆ่าเชื้อในหลอดทดลองจึงมีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อสูงกว่าตาเหง้ากระเจียวขาวที่ได้มาจากสภาพธรรมชาติ การทดลองครั้งนี้ใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ในการฟอกฆ่าเชื้อ เนื่องจากโซเดียมไฮโปคลอไรท์มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ไวรัส รวมถึงสปอร์ของเชื้อรา มีประสิทธิภาพในการฟอกฆ่าเชื้อดีมาก ให้เปอร์เซ็นต์ความปลอดเชื้อสูง ราคาไม่แพง หาซื้อได้ง่าย และไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ แต่หากใช้ในปริมาณความเข้มข้นสูงจะทำลายเนื้อเยื่อพืช หรืออวัยวะของพืชได้ สอดคล้องกับการทดลองของ Stanly and Chan (2007) นำตาเหง้าของขมิ้นอ้อยและกระทือป่ามาฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 100 มก/ล เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 20% เป็นเวลา 10 นาที และย้ายมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 10% เป็นเวลา 10 นาที พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อจุลินทรีย์ 80% สอดคล้องกับการทดลองของ Ahmad *et al.* (2011) นำตาเหง้าที่ได้จากสภาพธรรมชาติของพืชสกุล *Curcuma, Kaempferia* และ *Zingiber* ไปแช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 5% ทิ้งไว้ให้แห้งและเก็บตาเหง้าไว้ในที่ร่มให้พ้นแสงแดด เพื่อให้ตาเหง้าเกิดยอดใหม่ นำตาเหง้าที่เกิดยอดใหม่มาฟอกฆ่าเชื้อ นำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS พบว่าพืชสกุล *Curcuma* มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนน้อยกว่า 12% พืชสกุล *Zingiber* มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนน้อยกว่า 34% และพืชสกุล *Kaempferia* มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนน้อยกว่า 7%

การทดลองเปรียบเทียบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงกระเจียวขาวเพื่อเพิ่มจำนวนยอดและราก เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ความเข้มข้นต่างกันเพียงชนิดเดียวหรือเติมร่วมกับ NAA เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ 1 มก/ล ร่วมกับ NAA 0.1 มก/ล มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 2.50 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และเมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 มก/ล มีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 7.67 ราก/ชิ้นส่วนพืช จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ย ความยาวรากเฉลี่ย ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในการทดลองนี้ใช้ฮอร์โมน TDZ เพียงชนิดเดียวหรือใช้ร่วมกับ NAA ซึ่ง TDZ เป็นฮอร์โมนกลุ่มไซไทไคนิน มีผลกระตุ้นการแบ่งเซลล์ และการเกิดยอด ฮอร์โมน NAA เป็นฮอร์โมนกลุ่มออกซิน มีผลกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการเกิดราก สอดคล้องกับการทดลองของ Prathanturarug *et al.* (2003) เพาะเลี้ยงตายอดของขมิ้นชัน ในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ

ที่ระดับความเข้มข้น 18.17 µM เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จะชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 2.22 ยอด/ชิ้นส่วนพืช Zhang *et al.* (2011) เพาะเลี้ยงตาเหง้า *C. soloensis* Val. ในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 µM ทำให้มีจำนวนยอดเฉลี่ย 18.7 ยอด/ชิ้นส่วนพืช แตกต่างจากการทดลองของ Rahayu and Adil (2012) นำตาเหง้าว่านชักมดลูกในสภาพปลอดเชื้อ มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 5 และ 7 มก/ล ที่มีและไม่มีฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มก/ล พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BAP ที่ระดับความเข้มข้น 5 มก/ล ชักนำให้เกิดยอดและรากมากที่สุด

เมื่อนำหน่ออ่อนกระเจียวขาวที่ผ่าตามยาวและไม่ผ่าตามยาวมาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งและอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มก/ล ร่วมกับ IBA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงต้นอ่อนที่ไม่ผ่าตามยาวในอาหารแข็งและอาหารเหลว สามารถชักนำให้ต้นอ่อนเกิดยอดได้มากที่สุด 100% ต้นอ่อนที่ไม่ผ่าตามยาวเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสามารถชักนำต้นอ่อนให้มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 3.44 ยอด/ชิ้นส่วนพืช จำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด 4.22 ใบ/ชิ้นส่วนพืช และมีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 2.56 ราก/ชิ้นส่วนพืช ซึ่งมีจำนวนมากกว่าเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว ต้นอ่อนที่ไม่ผ่าตามยาวเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวมีความยาวยอดเฉลี่ยมากที่สุด 3.71 ซม. และมีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด 1.68 ซม. ผลการทดลองที่ได้แตกต่างจากงานทดลองของ Chong *et al.* (2012) นำยอดขมิ้นอ้อยมาผ่าตามยาวและไม่ผ่าตามยาวเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งและอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 0.5 มก/ล ร่วมกับฮอร์โมน IBA 0.5 มก/ล พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงยอดขมิ้นอ้อยที่ผ่าตามยาวในอาหารเหลว มีอัตราการเกิดยอดมากกว่าเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง และการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวมีขนาดของยอดใหญ่กว่าและมีน้ำหนักสดมากกว่าเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง แต่จากการทดลองในครั้งนี้ พบว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งมีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอดเฉลี่ย จำนวนใบ เปอร์เซ็นต์การเกิดราก และจำนวนรากเฉลี่ย มากกว่าต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว การนำต้นอ่อนมาผ่าและไม่ผ่าตามยาวเปรียบเทียบกัน พบว่าการไม่ผ่าต้นอ่อนแล้วนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารทั้งอาหารแข็งและอาหารเหลว ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด จำนวนยอดเฉลี่ย ความยาวยอดเฉลี่ย จำนวนใบ เปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนรากเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ยมากกว่าต้นอ่อนที่นำมาผ่าแล้วเพาะเลี้ยงในอาหารทั้ง 2 แบบ

ในการศึกษาการเกิดต้นใหม่ของกระเจียวขาวในหลอดทดลองครั้งนี้เป็นการศึกษาครั้งแรก ซึ่งยังไม่มีรายงานการศึกษามาก่อน มีเพียงการศึกษาในพืชที่อยู่ในสกุลเดียวกันเท่านั้น

5.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระเจียวขาว *(Curcuma singularis* Gagnep.**)**

จากการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนของกระเจียวขาวบนอาหารสูตร MS ร่วมกับฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 4 มก/ล และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มก/ล เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าการใช้ฮอร์โมนทั้งสองชนิดนี้ให้จำนวนยอดสูงสุด 2.9 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการเพิ่มฮอร์โมน TDZ ในอาหารเพาะเลี้ยง พบว่าเมื่อเพิ่มฮอร์โมน TDZ สามารถช่วยกระตุ้นให้กระเจียวขาวแตกหน่อได้เพิ่มมากขึ้นจาก 2.9 ยอด เพิ่มเป็น 3-4 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ ในอาหารสูตร MS ร่วมกับฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 4 มก/ล TDZ ความเข้มข้น 1,2, 3, 4มก/ล และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มก/ล โดยในอาหารสูตร MS ร่วมกับฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 4 มก/ล TDZ ความเข้มข้น 2 และ 3 มก/ล และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มก/ล สามารถชักนำให้ต้นอ่อนของกระเจียวขาวเกิดยอดได้สูงสุดเฉลี่ย 4 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ ซึ่งการนำฮอร์โมน TDZ ใช้ร่วมกับฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนินชนิดอื่น เพื่อเพิ่มจำนวนยอดนั้นยังสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Sharmin *et al*., 2013 ที่ศึกษาการเพิ่มจำนวนยอดของ *Curcuma aromatic* Salisb. นอกจากนี้ยังพบการใช้ฮอร์โมน TDZ เพียงชนิดเดียว เพื่อเพิ่มจำนวนยอดในพืชสกุลขมิ้นและพืชวงศ์ขิงหลายชนิด เช่น *C. aromatic* Salisb. (กู่คำ และวิไลลักษณ์, 2551) *C. caesia* Roxb. (Shahinozzaman *et al*., 2013) *C. long* L. (Srirat *et al*., 2008) *Zingiber montanum* Koenig. (Hamirah *et al*., 2010)

การชักนำให้ต้นกระเจียวขาวเกิดรากโดยการใช้ฮอร์โมน IBA นั้น สามารถชักนำให้ต้นอ่อนของกระเจียวขาวเกิดรากได้ ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Rahman *et al*., 2005 ที่ศึกษาการเกิดรากใน *Kaempferia kalanga* L. และ Hiremath, 2006 ที่ศึกษาการเกิดรากใน *Zingiber officinale* Roscoe. นอกจากนี้ยังพบการนำฮอร์โมนในกลุ่มออกซินตัวอื่นๆ มาใช้ในการชักนำรากของพืชสกุลนี้เช่น IAA ใน *C. caesia* Roxb, *C. zedoaria* Roscoe (Bharalee *et al*., 2005) NAA ใน *Z. moran*, *Z. zerumbet* L. (Das et al., 2012) และการใช้ฮอร์โมนในกลุ่มออกซินร่วมกับไซโตไคนินในพืชสกุลขมิ้นเพื่อชักนำให้ต้นพืชเกิดรากเช่น *C. parviflora* Wall. (อนุพันธ์ และพันธิตรา, 2006) *Z. officinale* Roscoe. (Lincy and Sasikumar, 2010) ซึ่งการใช้ฮอร์โมนทั้งสองกลุ่มร่วมกันนี้ไม่สอดคล้องกับผลการวิจัยของคณะผู้วิจัย เนื่องจากผลการศึกษาพบว่าการใช้ฮอร์โมนทั้งสองกลุ่มนี้ร่วมกันไม่สามารถชักนำให้กระเจียวขาวเกิดรากได้ 100% นอกจากนี้รากที่ได้มีลักษณะอวบสั้น ไม่ยืดยาว ซึ่งผลการศึกษาที่ได้นั้นอาจเป็นไปได้ว่าการใช้ฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนินที่ความเข้มข้นสูงนั้นไปยับยั้งการทำงานของฮอร์โมนในกลุ่มออกซิน ทำให้ฮอร์โมนในกลุ่มออกซินไม่สามารถกระตุ้นการเกิดรากได้

5.4 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านชักมดลูก

จากการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนของว่านชักมดลูกบนอาหารสูตร MS ร่วมกับการใช้ฮอร์โมน BA ที่ความเข้มข้น 2 มก/ล เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าฮอร์โมน BA สามารถชักนำให้ต้นอ่อนของว่านชักมดลูกเกิดยอดได้มากที่สุด 3.39 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ ซึ่งการใช้ฮอร์โมนในกลุ่มไซโคนินอย่างเช่น BA เพื่อเพิ่มจำนวนยอดนั้นสอดคล้องกับนักวิจัยท่านอื่นๆ ที่ทดลองใช้กับพืชสกุล *Curcuma* ชนิดอื่นๆ เช่น *C. caesia* Roxb, *C. zedoaria* Roscoe (Bharalee et al., 2005)

5.5 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระทือ

จากการเพาะเลี้ยงแคลลัสของกระทือโดยการใช้ฮอร์โมน BA, IAA, IBA, KN น้ำมะพร้าวที่ความเข้มข้น 20% และ proline, casein ที่ความเข้มข้น 500 มก/ล ร่วมกัน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าการใช้ฮอร์โมน BA ความเข้มข้น 8 มก/ล ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 6 มก/ล สามารถชักนำให้แคลลัสของกระทือเกิดยอดได้มากที่สุด 2.5 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ เกิดราก 4.2 ราก/ชิ้นเนื้อเยื่อ และพบว่าการใช้ฮอร์โมน KN ที่ความเข้มข้น 2 มก/ล ร่วมกับการใช้น้ำมะพร้าว 20% และ proline 500 มก/ล สามารถชักนำให้แคลลัสของกระทือเกิดยอดได้มากที่สุด 3.44 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ เกิดราก 7.22 ราก/ชิ้นเนื้อเยื่อ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ซึ่งการนำน้ำมะพร้าวมาช่วยให้แคลลัสของกระทือเกิดยอดสอดคล้องกับการศึกษาของ Tefera and Wannakrairoj, 2004 ใน *Aframomum corrorima* (Braun) Janse, Yusuf et al. (2011*)* ใน *Boesenbergia rotunda* (L.), Loc et al. (2005) ใน *Curcuma zedoaria* Roscoe. ส่วนการนำ proline มาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชวงศ์ขิงไม่พบมีรายงานการศึกษามาก่อนพบพียงการใช้ proline กับพืชชนิดอื่นเช่น ข้าว (Kumar and Ajinder, 2013) *Miscanthus* x *ogiformis* (Holme *et al*., 1997)

จากการศึกษาพบว่าพืชวงศ์ขิงโดยส่วนใหญ่สามารถชักนำให้เพิ่มจำนวนยอดได้ด้วยการใช้ฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนินได้แก่ BA และ TDZ โดยเฉพาะ TDZ มีความสามารถในการชักนำให้พืชวงศ์ขิงเพิ่มจำนวนยอดได้มากขึ้นอย่างมีประสิทธิภาพและสามารถชักนำพืชวงศ์ขิงบางชนิดให้เกิดแคลลัสได้ และฮอร์โมนที่นำมาใช้ชักนำต้นอ่อนของพืชวงศ์ขิงให้เกิดรากได้อย่างเช่นฮอร์โมน IBA นั้น สามารถช่วยกระตุ้นการเกิดรากได้อย่างมีประสิทธิภาพเช่นกัน นอกจากนี้การใช้สารอื่นๆ เพื่อช่วย

5.6 การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการและการวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

ต้นตูบหมูบที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลองมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าสองเท่า แต่มีปริมาณไขมันและไฟเบอร์ต่ำกว่าต้นตูบหมูบที่ได้จากป่าธรรมธรรมชาติ นอกจากนี้ยังพบว่าต้นตูบหมูบที่

จากการเพาะเลี้ยงในหลอดทดลองมีปริมาณคลอโรฟิลล์และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระหรือสารแอนตี้ออกซิแดนซ์สูงกว่า

5.7 ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยเทคนิคอาร์เอพีดี

มี 4 ไพรเมอร์จาก 11 ไพรเมอร์ที่เพิ่มจำนวนแถบดีเอ็นเอได้ในกระเจียวขาว *C. parviflora* ได้แก่ S10, S29, OPX2, OPX14 ที่มีประสิทธิภาพสูงในการแยกแยะความแตกต่างทางพันธุกรรมโดยพิจารณาจากค่า PIC มีค่าระหว่าง 0.94-0.99 เมื่อนำมาวิเคราะห์การจัดกลุ่ม (UPGMA cluster analysis) โดยใช้โปรแกรม NYSYSpc version 2.0 ทำให้แบ่งกลุ่มต้นกระเจียวขาวออกเป็นสามกลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย ต้นพืชตัวอย่างที่ 8 กลุ่มที่สอง ประกอบด้วยต้นพืชตัวอย่างที่ 2, 3, 4, 5, 7 และกลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยต้นพืชตัวอย่างที่ 1, 6 ความแตกต่างทางพันธุกรรมที่เกิดจากการใช้เครื่องหมายอาร์เอพีดีที่เกิดขึ้นนี้ อาจเนื่องจากพืชชนิดนี้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงและความแตกต่างของแหล่งที่มาของต้นพืชตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

กู่คำ วิไลเฮือง และ วิไลลักษณ์ ชินะจิตร. (2552). การขยายพันธุ์ว่านนางคำในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยาศาสตร์เกษตร. [No.323]

จรัญ มากน้อย และพวงเพ็ญ ศิริรักษ์. (2555). พืชสกุลขมิ้นในประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. เชียงใหม่: องค์การสวนพฤกษศาสตร์.

จรัญ มากน้อย. (2559). การใช้ประโยชน์พืชวงศ์ขิงในประเทศไทย. องค์การสวนพฤกษศาสตร์ สังกัดกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. เชียงใหม่.

พิทยา สรวมศิริ. (2551). อุตสาหกรรมพืชเครื่องเทศ. พิมพ์ครั้งที่ 3. วนิดาเพรส, เชียงใหม่

พอล เจ โกรดิ, หนูเดือน เมืองแสน และ พงศ์เทพ สุวรรณวารี. 2556. รายงานวิจัยความหลากหลายของพรรณพืช โครงสร้างป่าและปริมาณคาร์บอนเหนือพื้นดิน ในพื้นที่ปกปักพันธุกรรมพืช อพ.สธ. เขื่อนน้ำพุง จ.สกลนครและในพื้นที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ.นครราชสีมา. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สมราน สุดดี. (2553). พรรณไม้ไทยประจัน. สำนักงานหอพรรณไม้ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืชกรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช. กรุงเทพฯ.

สุพัตรา สระธรรม และ กอบเกียรติ แสงนิล. (2548). ผลของไซโตไคนินและออกซินต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงกระเจียวขาว. NU. International Journal of Science. 2:183-201.

สุรพล แสนสุข. (2543). การศึกษาสัณฐานวิทยา โครโมโซม และละอองเรณู พรรณไม้ วงศ์ขิงในอุทยานแห่งชาติภูพาน. น. 6-10. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

สุรพล แสนสุข. (2554). พืชถิ่นเดียวและพืชหายากของวงศ์ขิง-ข่าในประเทศไทย. วารสารวิจัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 16(3), 306-330.

อนุพันธ์ กงบังเกิด และ พันธิตรา กมล. (2549). ผลของไซโตไคนินและออกซินต่อการพัฒนาของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงกระเจียวขาว. NU Sci.J. 2(2):183- 201.

อรดี สหวัชรินทร์. (2539). เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: อักษรสยามการพิมพ์.

Ahmad, D., Wicaksana, N., Shimazaki, T., Kikuchi, A., Jatoi, S.A. and Watanabe, K.N. (2011). Environmentally safe *in vitro* regeneration protocol for *Curcuma*, *Kaempferia* and *Zingiber*. African Journal of Biotechnology. 10 (43): 8584-8592.

Bharalee, R., Das, A. and Kalita, M. C. (2005). *In Vitro* clonal propagation of *Curcuma caesia* Roxb and *Curcuma zedoaria* Rosc from rhizome bud explants. Journal. Plant Biochemistry & Biotechnology. 14: 61-63.

Chan, E.W.C., Lim, Y.Y. and Omar, M. (2007). Antioxidant and antibacterial activity of leaves of Etlingera species (Zingiberaceae) in peninsular malaysia. Food Chemistry. (104): 1586-1593.

Chirangini, P., Sinha, S.K. and Sharma, G.J. (2005). *In vitro* propagation and microrhizome induction in *Kaempferia galanga* L. and *K. rotunda* L. Indian Journal of Biotechnology. (4): 404-408.

Chithra, M., Martin, K.P., Sunandakumari, C. and Madhusoodanan, P.V. (2005). Protocol for rapid propagation, and to overcome delayed rhizome formation in field established *in vitro* derived plantlets of *Kaempferia galanga* L. Scientia Horticulturae. (104): 113-120.

Chong, Y. H., Khalafalla, M.M., Bhatt, A. and Chan, L.K. (2012). The Effects of culture systems and explant incision on *in vitro* propagation of *Curcuma zedoaria* Roscoe. Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science. 35(4): 863-874.

Chew, Y.L., Lim, Y.Y., Omar, M., and Khoo, K.S. (2008). Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. LWT-Food Sci Technol. 41:1067–1072. doi: 10.1016/j.lwt.2007.06.013.

Das, A., Kesari, V. and Rangan, L. (2012). Micropropagation and cytogenetic assessment of Zingiber species of Northeast India. Springer. 3.

Ferdous, M.M., Shahinozzaman, M., Faruk, M.O., Paul, S.P., Azad, M.A.K. and Amin, M.N. (2012). *In vitro* propagation of a medicinal plant-mango ginger (*Curcuma amada* Roxb.). International Journal of Biosciences. 2 (11): 166-172.

Holme, I.B., Krogstrup, P. and Hansen J. (1997). Embryogenic callus formation, growth and regeneration in callus and suspension cultures of Miscanthus x ogiformis Honda Giganteus' as affected by proline. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. (50): 203-210.

Hamirah, M. N., Sani, H. B., Boyce, P. C. and Sim, S. L. (2010). Micropropagation of red ginger (*Zingiber montanum* Koenig), a medicinal plant. Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology. 18(1): 127-130.

Kalpana, M. and Anbazhagan, M. (2009). *In vitro* production of *Kaempferia galanga* L.- an endangered medicinal plant. Journal of Phytology. 1(1): 56-61.

Khatun, A., Nasrin, S., and Hossain, M.T. (2003). Large scale multiplication of ginger (Zingiber officinale Rosc.) from shoot-tip culture Online J. Biol. Sci., 3 (2003), pp. 59-6

Kochuthressia, K.P., John Britto, S. and Jaseentha, M.O. (2012). *In vitro* multiplication of *Kaempferia galanga* L. an endangered species. International Research Journal of Biotechnology. 3(2): 27-31.

Kumar, S.S. and Ajinder, K. (2013). Genotype independent tissue culture base line for high regeneration of japonica and indica rice. Research Journal of Biotechnology. 8 (12): 96-101.

Larsen, K. & Larsen, S.S. (2006) Gingers of Thailand. Thailand. Queen Sirikit Botanic.

Lincy, A. and B. Sasikumar. (2010). Enhanced adventitious shoot regeneration from aerial stem explants of ginger using TDZ and its histological studies. Turk. J. Bot., 34: 21-29

Loc, N.H., Duc, D.T., Kwon, T.H. and Yang, M.S. (2005). Micropropagation of zedoary (*Curcuma zedoaria* Roscoe) -a valuable medicinal plant. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. (81): 119-122.

Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassay with tabacco tissue culture. Physiologia Plantarum, (15): 473-497.

Nayak, S. (2000). *In vitro* multiplication and microrhizome induction in *Curcuma aromatic* Salisb. Plant Growth Regulation. (32): 41-47.

Parida, R., Mohanty, S., Kuanar, A. and Nayak, S. (2010). Rapid multiplication and *in vitro* production of leaf biomass in *Kaempferia galanga* through tissue culture. Electronic Journal of Biotechnology. 13(4): 5-6.

Prakash, S., Elangomathavan, R., Seshadri, S., Kathiravan, K. and Ignacimuthu, S. (2004). Efficient regeneration of *Curcuma amada* Roxb. plantlets from rhizome and leaf sheath explants. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 78: 159-165.

Prathanturang, S., Soonthornchareonnon, N., Chuakul, W., Phaidee, Y. and Saralamp, P . (2003). High-frequency shoot multiplication in *Curcuma longa* L. using thidiazuron. Plant Cell Reports. (21): 1054-1059.

Prathanturarug, S., Soonthornchareonnon, N., Chuakul, W., Phaidee, Y. and Saralamp, P . (2005). Rapid micropropagation of *Curcuma longa* using bud explants precultured in thidiazuron-supplemented liquid medium. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. (80): 347-351.

Rahayu, S. and Adil, W.H. (2012). The effect of BAP and Thidiazuron on *in vitro* growth of Java turmeric (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb). ARPN Journal of Agricultural and Biological Science. 7 (10): 820-824.

Rahman, M.M., Amin, M.N., Ahamed, T., Ahmad, S., Habib, A., Ahmed, R., Ahmed, M.B. and Ali, M.R. (2005). *In vitro* rapid propagation of black thorn (*Kaempferia galanga* L.: a rare medicinal and aromatic plant of Bangladesh. Journal of Biological Sciences. 5(3): 300-304.

Rahman, M.M., Amin, M.N., Ahamed, T., Ali, M.R., and Habib, A. (2004). Efficient plant regeneration through somatic embryogenesis from leaf base derived callus of *Kaempferia galanga* L. Asian Journal of Plant Sciences. 3(6): 675-678.

Raihana, R., Faridah, Q.Z., Julia, A.A., Abdelmageed, A.H.A. and Kadir, M.A. (2011). *In vitro* culture of *Curcuma mangga* from rhizome bud. Journal of Medicinal Plants Research. 5 (28): 6418-6422.

Rout, G.R., Das, P., Goel, S., and Raina, S.N. (1998). Determination of genetic stability of micropropagated plants of ginger using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. Botanical Bulletin of Academia Sinica. 39: 23-27.

Shahinozzaman, M., Ferdous, M.M., Faruq, M., Azad, M., and Amin, M.N. (2013). Micropropagation of black turmeric (*Curcuma caesia* Roxb.) through in vitro culture of rhizome bud explants. J Cent Eur Agric 14:110–115

Sharma, T.R. and Singh B.M. (1995). High-frequency in vitro multiplication of disease-free *Zingiber officinale* Rosc. Plant Cell Reports. 17: 68-72.

Sharmin, S.A. et al. (2013). Micropropagation and antimicrobial activity of *Curcuma aromatica* Salisb, Turkish Journal of Biology. 37: 698-708

Srirat, P., Sirisansaneeyakul, S., Parakulsuksatid, P., Prammanee, S., and Vanichsriratana, W. (2015). In vitro shoot propagation of Curcuma longa L. from rhizome bud explants. The 3th International Conference on. Fermentation Technology for Value Added Agricultural Products. 26th to 28th August 2009. Khon Kaen, Thailand

Shukl, S.K., Shukla, S., Koche, V. and Mishra, S.K. (2007). *In vitro* propagation of tikhur (*Curcuma angustifolia* Roxb.): A starch yielding plant. Indian Journal of Biotechnology. (6): 274-276.

Skoog, F., and Miller, C.O. (1957). Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultures in vitro. Symp. Soc. Exp. Biol. 11, 118–131.

Stanly, C. and Chan, C.L. (2007). Micropropagation of *Curcuma zedoaria* Roscoe and *Zingiber zerumbet* Smith. Biotechnology. 6 (4): 555-560.

Tefera, W. and Wannakrairo, S. (2004). A micropropagation method for korarima (*Aframomum corrorima* (Braun) Jansen). Science Asia. 30: 1-7.

Theanphong, O., Songsak, T. and Kirdmanee, C. (2010). Effect of plant growth regulators on micropropagation of *Curcuma aeruginosa* Roxb. Thai Journal of Botany. 2 (Special Issue). 135-142.

Yusuf, N.A., Annuar, M.M. and Khalid, N. (2011). Rapid micropropagation of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. Kulturpfl. (a valuable medicinal plant) from shoot bud explants. African Journal of Biotechnology. 10 (7): 1194-1199.

Zhang, S., Liu, N., Sheng, A., Ma, G. and Wu, G. (2011). Direct and callus mediated regeneration of *Curcuma soloensis* Valeton (Zingiberaceae) and *ex vitro* performance of regenerated plants, Contents lists available at SciVerse ScienceDirect. (130): 899-905.

ประวัติคณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. ชื่อ (ภาษาไทย) รศ. ดร.หนูเดือน เมืองแสน (Assoc. Prof. Dr. Nooduan Muangsan)
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-3017-01003-xxx
3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์
4. หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้พร้อมโทรศัพท์โทรสารและ E-mail

   สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

   111 ถนนมหาวิทยาลัย ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 30000

   โทรศัพท์ 044-224249, โทรสาร 044 – 224633, E-mail : nooduan@sut.ac.th
5. ประวัติการศึกษา

   2546 Ph.D. (Plant Molecular Biology), North Carolina State University, USA

   2539 วท.บ. (ชีววิทยา เกียรตินิยม อันดับ 1) มหาวิทยาลัยขอนแก่น
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

   Gene silencing, Plant transformation, Plant tissue culture, Genetics
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

   7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย -ไม่มี-

   7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย
8. ผลงานวิชาการ (5 ปีย้อนหลัง 2012-2017)

1. Krudnak, A., **Muangsan, N.** and Machikowa, T. 2012. High Frequency Callus Induction through Anther Culture in High Oil Sunflower (*Helianthus annuus* L.). KKU Res J.
2. Saensee, K., Machikowa, T. and **Muangsan, N**. 2012. Comparative Performance of Sunflower Synthetic Varieties under Drought Stress. International Journal of Agriculture and Biology. IF 0.940
3. Jantasee A., Thumanu K., Muangsan N., Leeanansaksiri W. et al. 2013. Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Antioxidant Capacity Determination in Colored Glutinous Rice, Food Analytical Methods, pp. 1

ผู้ร่วมวิจัย

1. ผศ. ดร.พอล เจ โกรดิ

(ภาษาไทย) ผศ.ดร. พอล เจ โกรดิ

(ภาษาอังกฤษ) Asst.Prof. Paul J. Grote, Ph.D.

2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน (กรณีเป็นชาวต่างชาติโปรดระบุเลขที่ passport)

712079381 (U.S. passport)

3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์เกษียณ

4. หน่วยงานที่อยู่ที่ติดต่อได้พร้อมโทรศัพท์ โทรสาร และ E-mail

School of Biology, Institute of Science

Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima 30000

Tel. 0 4422 3311 Fax 0 4422 4633 Email paul@sut.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

B.S. (Cum Laude), 1977, Xavier University, Cincinnati, Ohio, USA. Major: Biology.

M.S., 1979, University of Cincinnati, Cincinnati, Ohio, USA. Major: Biological Sciences.

Ph.D., 1989, Indiana University, Bloomington, Indiana, USA. Major: Biology.

6.สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

Systematics of dipterans, taxonomy and evolution of conifers

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ :

7.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ชื่อแผนงานวิจัย .....

7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย :

8. งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว :

ผู้ร่วมโครงการวิจัย

1. ผศ. ดร.ฐิติพร มะชิโกวา (Asst. Prof. Dr. Thitiporn Machikowa)

2. เลขหมายประจำตัวประชาชน 3-3102-0023-xxxx

3. ตำแหน่ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์

4. สถานที่ติดต่อ สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จ. นครราชสีมา 30000 โทรศัพท์ 044-224579 โทรสาร 044-224281 อีเมล์ machiko@sut.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

วท.บ. (เทคโนโลยีการผลิตพืช) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี พ.ศ. 2541

วท.ด. (เทคโนโลยีการผลิตพืช) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี พ.ศ. 2547

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ Genetics, Plant Breeding

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

ผู้ร่วมโครงการวิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางดวงกมล แม้นศิริ (Mrs. DuangkamolMaensiri)
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 2299 00098 xxx
3. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี 111 ถ. มหาวิทยาลัย ต. ในเมือง อ. เมือง จ. นครราชสีมา 30000

   โทรศัพท์ 044 224615 โทรสาร044 224633 email: duangkamol@sut.ac.th
5. ประวัติการศึกษา

   2538 วท.บ. (ชีววิทยา), มหาวิทยาลัยขอนแก่น

   2001.D. (Molecular Biology), University of Manchester
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ(แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ: gene identification and characterization, molecular cloning
7. ผลงานวิจัย (ย้อนหลัง 5 ปี) Jantasee A., Thumanu K., Muangsan N., Leeanansaksiri W. et al. 2013. Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Antioxidant Capacity Determination in Colored Glutinous Rice, Food Analytical Methods, pp. 1

ผู้ร่วมโครงการวิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) ผศ.ดร.ปิยะพร แสนสุข (**Mrs. Piyaporn Saensouk)**

2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3 4120 00086 xxx

3. ตำแหน่งปัจจุบัน พนักวิชาการ (ผู้ช่วยศาสตราอาจารย์)

4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ต.ขามเรียง อ. กันทรวิชัย

จ. มหาสารคาม 44150 โทรศัพท์ 043-754245 โทรสาร 043-754245

อีเมลล์: pcornukaempferia@yahoo.com โทรศัพท์มือถือ 084-6853079

5.ประวัติการศึกษา

ปีที่จบการศึกษา	ระดับปริญญา	ชื่อเต็ม และอักษรย่อปริญญา	สาขาวิชา	ชื่อสถาบันการศึกษา	ประเทศ
2539	ปริญญาตรี	วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ)	ชีววิทยา	ม. ขอนแก่น	ไทย
2543	ปริญญาโท	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม)	ชีววิทยา	ม. ขอนแก่น	ไทย
2551	ปริญญาเอก	ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (ปร.ด.)	ชีววิทยา	ม. ขอนแก่น	ไทย

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant Tissue Culture) กายวิภาคศาสตร์พืช (Plant Anatomyเรณูวิทยา (Palynology)

7. ผลงานวิจัย

1. Paworn, L., Saensouk, P., Saensouk, S. and Thongpairoj, U. 2012. Comparative leaf epidermis of some *Merremia* species (Convolvulaceae). KKU Research Journal 17(3): 401-409. (in Thai)
2. Kajornjit, P., Saensouk, P., Saensouk, S. and Thongpairoj, U. 2012. Comparative anatomy and pollen morphology of *Jacquemontia* Choisy (Convolvulaceae) in Thailand. KKU Research Journal 17(3): 410-422. (in Thai)
3. Nonkratok, A., Saensouk, P., Saensouk, S. and Maknoi, C. 2012. Leaf surface anatomy of *Curcuma* L. in Northeastern Thailand. KKU Research Journal 17(3): 443-458. (in Thai)