

การขยายพันธุ์สมุนไพรหนอนตายหายากโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สุมนา นีระ¹ ปรีชา นีระ² และ วชิระ เกตุเพชร¹

¹ภาควิชาพืชสวน ²ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ถ. มิตรภาพ จ. ขอนแก่น 40002

Propagation of medicinal plant *Stemona tuberosa* Lour. through tissue culture technique

Sumana Neera¹, Preecha Neera² and Wachira Ketpet¹

¹Department of Horticulture; ²Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Mittraphab Road, Khon Kaen 40002

บทคัดย่อ

การขยายพันธุ์สมุนไพรหนอนตายหายากโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นส่วนหนึ่งของโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี พื้นที่โคกภูตากา อำเภอกุเวียง จังหวัดขอนแก่น โดยศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการขยายพันธุ์หนอนตายหายากจากชิ้นส่วนพืช 2 ส่วนคือ ใบอ่อนและข้อของต้นหนอนตายหายาก ส่วนของใบอ่อนมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ MS และ B₅ ที่เติม 2,4-D 0.5 ppm ร่วมกับ BA 3 ppm ในสภาพที่มืด สามารถชักนำให้ใบอ่อนพัฒนาเป็นแคลลัสได้ดีที่สุด ส่วนของข้อที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติม NAA 1 ppm ร่วมกับ BA 4 ppm ในสภาพที่สว่างสามารถชักนำให้เกิดต้นมากที่สุด 19.5 ต้นต่อชิ้นส่วน ต้นอ่อนที่ได้นำมาเพิ่มปริมาณต้นในอาหารสังเคราะห์ได้ดีที่สุดในอาหารสังเคราะห์ MS ที่เติม NAA 1 ppm ร่วมกับ BA 4 ppm ในสภาพที่มีแสง สามารถเพิ่มปริมาณต้นอ่อนได้สูงสุดจำนวน 150.4 ต้นต่อชิ้นส่วน ในระยะเวลา 2 เดือนและการชักนำให้เกิดราก พบว่าต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม activated charcoal 2% และ IAA 2 ppm มีลักษณะรากที่ยาวและเป็นรากสะสมอาหารคล้ายกับต้นแม่ เมื่อนำออกปลูกระถาง พบว่ารอดตาย 100%

Abstract

Propagation of medicinal plants *Stemona tuberosa* Lour. through tissue culture technique was done under Plant Genetic Conservation Project Under The Royal Initiative of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Siridhorn, Kok Phutaka area in Amphur Phu Wieng, Khon Kaen province. Two kinds of explants i.e young leaves and axillary buds were *in vitro* cultured. The young leaf explants were cultured on MS and B₅ solid media, on the B₅ medium with 0.5 ppm 2,4-D and 3 ppm BA in the dark condition provided the best callus induction. The

axillary bud cultured on MS with 1 ppm NAA and 4 ppm BA in the light condition was the best medium to induce plantlets (19.4 plantlets per explant). For mass propagation, each plantlet cultured in the vessel contained MS with 1 ppm NAA and 4 ppm BA in the light condition induced highest number of plantlets induction (150.4 plantlets per vessel) within 2 months. The plantlet was cultured on MS with 2 ppm IAA and 2% activated charcoal which was the best medium to induce the root. These roots were similar to the storage root of mother plant. The root induced plantlets of *S. tuberosa* were grown in pots. One hundred percent of plantlets transplanted were survived.

บทนำ

ต้นหนอนตายหยากเป็นพืชสมุนไพรในวงศ์ Stemonaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Stemona tuberosa* Lour. ซึ่งมีชื่อท้องถิ่นแตกต่างกันออกไป เช่น โป่งมดงาม หนอนตายหยาก ปงช้าง ฮาก สามสิบ กะเพียด และรากลิ้ง ต้นหนอนตายหยากเป็นไม้เลื้อย มีหัวใต้ดินเป็นกระจุก ชาวบ้านได้นำหัวมาโขลกบิบน้ำหยอดแผลวัวควายซึ่งมีหนอนไช หนอนจะตายหมด ได้มีรายงานการวิจัยว่า หนอนตายหยากมีฤทธิ์ฆ่าแมลง ฆ่าเห็บเหาและหิด และใช้ป้องกันกำจัดหนอนกระทุ๊ก (วีระพล จันทรสวรรค์ และคณะ, 2536; รัตติยา นวลหล้า และพิทยา สรวมติ, 2542) รากหนอนตายหยากประกอบด้วยสาร alkaloids ได้แก่ Stemonine, Tuberstemonine, Stemonidine, Isostemonidine และสารพวก rotenoid ได้แก่ rotenone เป็นต้น (พยอม ตันติวัฒน์, 2521) นอกจากนี้พบว่ามีการผลิตสารสกัดจากหนอนตายหยากเพื่อนำไปใช้ในการกำจัดแมลงในแปลงผักและมีวางจำหน่ายที่ตลาดสวน จตุจักร กรุงเทพฯ จนถึงปัจจุบันนี้ จากการค้นคว้าเพื่อวิจัยในเรื่องนี้ ผู้วิจัยไม่พบว่ามีรายงานการวิจัยด้านการใช้เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์หนอนตายหยากมาก่อน ดังนั้นการศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงได้ศึกษาถึงวิธีการขยายพันธุ์ต้นหนอนตายหยากจากส่วนของพืชโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อ

เป็นแนวทางการขยายพันธุ์สมุนไพรต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

นำชิ้นส่วนใบอ่อนและข้อของสมุนไพรต้นหนอนตายหยากมาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรด์ความเข้มข้น 2% ร่วมกับ tween 20 ปริมาตร 1 หยดต่อ 50 มล. เป็นเวลา 8 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง หลังจากนั้นนำชิ้นส่วนที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วมาตัดให้ได้ขนาดตามต้องการแล้วนำไปเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่ปรับความเป็นกรดและด่างของอาหารสังเคราะห์ให้ได้ 5.6-5.8 ด้วย KOH 1, 0.1 N และ HCl 1, 0.1 N เติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร วุ้น 2.5 กรัมต่อลิตร และนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ความร้อน 121 °C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

นำชิ้นส่วนใบอ่อนมาเลี้ยงในอาหารสูตร B₅ ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0, 0.1, 0.5 และ 1 ppm ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0, 1, 3 และ 5 ppm ในสภาพที่มีดเป็นเวลา 1 เดือน สำหรับส่วนของข้อที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้วนั้นนำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2 ppm ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0, 1, 2, 3, 4 ppm ใน

สภาพมืดและมีแสง 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 1 เดือน หลังจากนั้นนำต้นอ่อนที่ได้มาชักนำให้เกิดรากในอาหารสูตร MS ที่เติม IAA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1 และ 2 ppm ร่วมกับผงถ่าน (activated charcoal) ความเข้มข้น 1 และ 2% วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design จำนวน 5 ซ้ำ

ผลการศึกษา

การเพาะเลี้ยงใบอ่อนของหนอนตายหยาก

จากการทดลองพบว่าการเลี้ยงในสภาพที่มีมืดชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดี (ตารางที่ 1) ขณะที่สภาพการเลี้ยงในที่สว่าง ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เลย ในทุกความเข้มข้นของ 2,4-D และ BA จากตารางที่ 1 พบว่าในอาหารที่มีความเข้มข้นของ

2,4-D และ BA เพิ่มขึ้นสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้มากขึ้น ในอาหารที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 ppm ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 3 ppm สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีที่สุดทั้งที่รอยตัดและเส้นใบคือเกิดแคลลัส 100% แต่ในอาหารสังเคราะห์ที่ปราศจาก 2,4-D หรือ BA ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้เลย

การเพาะเลี้ยงข้อของต้นหนอนตายหยาก

การเพาะเลี้ยงข้อของต้นหนอนตายหยากในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ในสภาพที่มีมืดเป็นเวลา 1 เดือนไม่สามารถชักนำให้เนื้อเยื่อมีการพัฒนาเกิดเป็นแคลลัสและต้นได้ ในทุกความเข้มข้นของการทดลอง ขณะที่การเพาะเลี้ยงในสภาพที่สว่างที่ให้แสง 24 ชั่วโมงในอาหารสังเคราะห์ MS ทุกสูตรสามารถชักนำให้เกิดต้นได้ และอาหาร MS ที่เติม

ตารางที่ 1: ผลของ 2,4-D และ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กันที่มีต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบของต้นหนอนตายหยาก ที่เลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร B₅ ที่เพาะเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 1 เดือน

2,4-D (ppm)	BA (ppm)	การเกิดแคลลัส (%)	% การเกิดแคลลัสในแต่ละตำแหน่ง		ลักษณะแคลลัสที่เกิดขึ้น ^{1/}
			รอยตัด	เส้นใบ	
0	0	0	0	0	-
	1	0	0	0	-
	3	0	0	0	-
	5	0	0	0	-
0.1	0	0	0	0	-
	1	0	0	0	-
	3	40	100	0	-
	5	80	100	50	++
0.5	0	0	0	0	-
	1	40	100	50	++
	3	40	100	100	+++
	5	60	100	0	++
1	0	0	0	0	-
	1	60	67	67	++
	3	40	67	33	+++
	5	40	100	50	+++

หมายเหตุ: ^{1/} ลักษณะของแคลลัสที่เกิดขึ้น - หมายถึง ไม่เกิดแคลลัส + หมายถึง เกิดแคลลัสน้อยมาก ++ หมายถึง เกิดแคลลัสน้อย +++ หมายถึง เกิดแคลลัสปานกลาง ++++ หมายถึง เกิดแคลลัสมาก

2, 4-D ความเข้มข้น 1 ppm ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 4 ppm สามารถชักนำให้เกิดต้นได้มากที่สุด 19.5 ต้นต่อชิ้นส่วน (ตารางที่ 2 และ ภาพที่ 1) และในอาหารที่เติม BA มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นของหนอนตายหยากให้มีจำนวนต้นมากขึ้น และ

เมื่อเลี้ยงต้นอ่อนที่ได้มาเลี้ยงในอาหารความเข้มข้นเดิมพบว่าในอาหารสูตร MS ที่มี NAA 1 ppm ร่วมกับ BA 4 ppm ต่อไปจนถึง 2 เดือนสามารถเพิ่มจำนวนต้นได้ถึง 150.4 ต้นต่อชิ้นส่วน (ไม่ได้แสดงตาราง)

ตารางที่ 2: การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของต้นหนอนตายหยากในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA และ BA ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ กัน ในที่สว่างเป็นระยะเวลา 1 เดือน

BA (ppm)	NAA (ppm)	การเกิดต้น (%)	จำนวนต้นเฉลี่ย (ต้น)	การเกิดแคลลัส (%)
0	0	100	4	0
	0.5	100	4.2	50
	1	100	4	50
	1.5	100	4.5	50
	2	100	3.9	70
1	0	100	4.8	100
	0.5	100	5.7	100
	1	100	5.9	100
	1.5	100	6.2	100
	2	100	6.8	100
2	0	100	7.1	100
	0.5	100	8.5	100
	1	100	7.9	100
	1.5	100	9.3	100
	2	100	10.2	100
3	0	100	7.8	100
	0.5	100	9.2	100
	1	100	10.2	100
	1.5	100	11.1	100
	2	100	10.5	100
4	0	100	12.5	100
	0.5	100	17.5	100
	1	100	19.5	100
	1.5	100	10.2	100
	2	100	9.4	100



ภาพที่ 1: ต้นหนอนตายหยากที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การชักนำให้เกิดราก

จากการนำต้นอ่อนหนอนตายหยากไปเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม IAA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1 และ 2 ppm ร่วมกับผงถ่าน 0 และ 2% (ภาพที่ 2) พบว่า ในอาหารที่เติม IAA ความเข้มข้น 1 ppm และไม่เติมผงถ่าน สามารถ

ชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุด และรากที่ได้มีลักษณะใหญ่คล้ายกับต้นแม่ (ภาพที่ 2 และ 3) สำหรับในอาหารที่เติมผงถ่าน 2% พบว่าสามารถเกิดรากได้ยาว เมื่อนำออกปลูกพบว่าต้นที่เกิดจากการชักนำรากบนอาหารทุกสูตร สามารถรอดตายได้ 100%



ภาพที่ 2: รากของต้นหนอนตายหยากที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม IAA ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับผงถ่านเป็นเวลา 1 เดือน



ภาพที่ 3: รากที่ได้จากการชักนำในอาหาร ที่มี IAA ความเข้มข้น 1 ppm เป็นระยะเวลา 1 เดือน

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของ สมุนไพรต้นหนอนตายหายากพบว่า ชิ้นส่วนใบ สามารถชักนำให้เกิดเป็นแคลลัสได้ในที่มีดในอาหารสังเคราะห์ B₅ ที่เติม 2,4-D 0.5 ppm ร่วมกับ BA 3 ppm ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้อ ของต้นหนอนตายหายากพบว่าอาหารสังเคราะห์ที่ เติม NAA 1 ppm ร่วมกับ BA 4 ppm สามารถชัก นำให้เกิดต้นได้ดีที่สุด และเมื่อย้ายเปลี่ยนอาหารลง สูตรเดิมสามารถชักนำให้เกิดต้นได้สูงสุดถึง 19.5 ต้นต่อชิ้นส่วนในระยะเดือนแรกและ 150.4 ต้นต่อ ชิ้นส่วนในระยะเดือนที่ 2 เมื่อย้ายลงอาหารที่มี IAA 1 ppm สามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีและรากที่ได้มี ขนาดใหญ่มีอาหารสะสมมากคล้ายกับต้นแม่ จาก ผลการทดลองครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าสามารถปลูกต้น

หนอนตายหายากจากต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อ และสามารถผลิตต้นกล้าในสภาพปลอด เชื้อได้จำนวน 1 ล้านต้นภายในเวลา 6-8 เดือน

เอกสารอ้างอิง

- พยอม ดันติวัฒน์. 2521. สมุนไพร. กรุงเทพฯ. 142 หน้า
- รัตติยา นวลหล้า และพิทยา สรวมติริ. 2542. การ คัดเลือกพืชสมุนไพรป้องกันกำจัดหนอนกระทุ ผัก. วารสารเกษตร 15(2): 192-202.
- วีระพล จันทรสวรรค์, สถาพร จิตตपालพงศ์ และนงนุช จันทราช. 2536. ประสิทธิภาพของสารสกัดจาก หนอนตายหายากต่อเห็บโค. วารสารวิทยา- ศาสตร์ 27: 336-340.