# การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านนางคำ
# Tissue Culture of *Curcuma aromatica* Salisb.

**กู่คำ วิไลเฮือง และ วิไลลักษณ์ ชินะจิตร**
**Koukham Vilayheuang and Wilailak Chinachit**

## Abstract

Major factors for tissue culture and micropropagation of of *Curcuma aromatica* Salisb. were investigated including types of suitable plant tissue and cytokinins. Results showed that the lateral bud, and shoot tip tissues were suitable for tissue culture on MS medium containing 2 mg/l of TDZ for 8 weeks. The number of proliferated adventitious shoots were average 12.2 and 7.4 plantlets from single lateral bud and shoot tip explants, respectively, while no development occurred on young leaf tissue. Various kinds and concentrations of cytokinin affecting multiplication of adventitious shoot were studied by culturing lateral bud tissue on solid MS medium adding with BA, kinetin and TDZ at 1 and 2 mg/l. All treatments showed significantly different responses on shoot length, number of adventitious shoots and roots per explant. The highest shoot number, e.g. 9.0 and 12.2 shoots per explant was obtained from single lateral bud explant cultured on medium containing 1 and 2 mg/l TDZ, respectively.

**Key words:** *Curcuma aromatica* Salisb., explant, tissue culture, cytokinin

## บทคัดย่อ

ทำการศึกษาปัจจัยสำคัญสำหรับการเพาะเลี้ยงและเพิ่มปริมาณเนื้อเยื่อว่านนางคำ ได้แก่ ชนิดของเนื้อเยื่อเริ่มต้นและชนิดสารไซโตไคนินที่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มปริมาณของยอดแขนง พบว่า ชิ้นส่วนเริ่มต้นที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม TDZ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร คือ ส่วนตาข้างและยอดอ่อน โดยจากส่วนตาข้างมีการพัฒนาของส่วนยอดแขนงได้มากที่สุดเฉลี่ย 12.2 ยอดต่อชิ้นส่วน รองมาคือชิ้นส่วนปลายยอดได้ 7.4 ยอดต่อชิ้นส่วน ในขณะที่ส่วนใบอ่อนไม่มีการพัฒนาแต่อย่างใด การเพิ่มปริมาณยอดแขนงจากส่วนของเนื้อเยื่อตาข้างของว่านนางคำเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ไม่เติมและเติมไซโตไคนินชนิดต่างๆ คือ คือ BA, Kinetin (Kn) และ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า เนื้อเยื่อส่วนตาข้างของว่านนางคำที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมไซโตไคนินชนิดต่างๆ มีจำนวนยอดแขนง ความยาวของยอดและจำนวนรากแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยอาหาร MS ที่เติม TDZ 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตรกระตุ้นให้เนื้อเยื่อมีการสร้างยอดแขนงได้จำนวนสูงสุดเฉลี่ย 9.0 และ 12.2 ยอด ตามลำดับ

**คำสำคัญ:** ว่านนางคำ ชิ้นส่วนพืช การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ไซโตไคนิน

---

สาขาพืชสวน ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002
Horticulture Section, Department of Plant Science and Agricultural Resource, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

## บทนำ

ว่านนางคำ (*Curcuma aromatic* Salisb.) เป็นไม้ล้มลุก มีลำต้นใต้ดินแบบ rhizome หรือเหง้าสีเหลือง มีกลิ่นหอม จัดอยู่ในวงศ์ขิง (Zingiberaceae) ว่านนางคำเป็นพืชที่มีน้ำมันหอมระเหยที่สำคัญคือ curcumin พบอยู่ทุกส่วนของต้นโดยเฉพาะเหง้า นอกจากนี้ยังมีสารหลัก 2 ตัว คือ ดีเมท็อกซี่เคอร์คูมิน (Demethoxycurcumin) และ บิสดีเมท็อกซี่เคอร์คูมิน (Bisdemethoxycurcumin) เคอร์คิวมินอย์ มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี ใช้เป็นยาบรรเทาอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ จุกเสียด แน่นอาหาร ไม่ย่อย (องค์การเภสัชกรรม, 2550) ใช้เป็นยาลดกรด ขับลมแก้ปวดท้อง แก้อาการเกร็งทำให้การบีบตัวของลำไส้ลดลง เป็นยาเจริญอาหาร แก้โรคผิวหนัง แก้เสมหะ (Thai Nutritional & Herbs Center, 2007) ในตำรายาจีนยังนำมาใช้เป็นยาต้านเชื้อ เป็นยาต้านและรักษาโรคมะเร็ง นอกจากนั้นยังมีสาร aromatic volatile oil ซึ่งช่วยในการกำจัดไขมันอุดตันในเส้นเลือด (Nature Products Network, 2007) นอกจากนี้ยังนิยมใช้ว่านนางคำบดเป็นผงแห้ง สำหรับใช้ขัดผิว เพื่อดูแลผิวพรรณให้สวยงาม ลดการตกกระและจุดด่างดำทำให้ผิวดูผุดผ่องเนียนนุ่มสดใสสวยงามอยู่เสมอ และยังนำมาใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เสริมความงามต่าง ๆ เช่น ครีมบำรุงผิว โลชั่นบำรุงผิว สารสกัดจากว่านางคำยังสามารถนำมาใช้ในการป้องกันยุงได้อีกด้วย (Pitasawat et al. 2003) ด้วยเหตุนี้จึงมีเกษตรกรต้องการปลูกว่านนางคำเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ ส่งผลให้มีความต้องการหัวพันธุ์จำนวนมากขึ้นด้วย แต่การเพิ่มปริมาณหัวพันธุ์โดยวิธีปกตินั้นจะได้จำนวนน้อย ซึ่งไม่เพียงพอกับความต้องการที่เพิ่มขึ้น อีกทั้งส่วนใหญ่ของหัวพันธุ์จะต้องเอาไปขายเป็นผลผลิตเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมดังกล่าว เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเทคนิคที่สามารถนำมาใช้ในการเพิ่มปริมาณต้นพืชให้ได้มากๆ ในเวลาอันสั้นและได้ต้นพันธุ์ที่ปลอดโรค (รังสฤษดิ์, 2540) จึงน่าจะเป็นเทคนิคที่ดีสำหรับการนำมาใช้ผลิตต้นพันธุ์เพื่อส่งเสริมให้กับเกษตรกร แต่เนื่องจากเทคนิคการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อเพื่อเพิ่มปริมาณว่านนางคำยังมีข้อมูลอยู่น้อยมาก ดังนั้นจึงได้ศึกษาเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสำหรับเพิ่มปริมาณว่านนางคำในสภาพปลอดเชื้อ

## วิธีทดลอง

**ชิ้นส่วนเริ่มต้นที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**

นำเหง้าของว่านนางคำมาขจัดดินออกให้หมด แล้วใส่ตะกร้านำมาเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิห้อง จนกระทั่งเกิดหน่ออ่อนขึ้นมาใหม่จึงนำหน่ออ่อนที่มีความยาวประมาณ 5 เซนติเมตรมาล้างด้วยน้ำประปา และฆ่าเชื้อบริเวณผิวโดยการแช่ในน้ำยากำจัดเชื้อรา (ฟันดาโซล 50) อัตรา 1 กรัมต่อลิตร แช่นาน 30 นาที แล้วล้างด้วยน้ำยาล้างจาน (detergent) กับน้ำสะอาด หลังจากนั้นแช่ด้วย ethanol 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที แล้วฟอกฆ่าเชื้อด้วย NaOCl 1.2 เปอร์เซ็นต์ (V/V) เป็นเวลา 30 นาที ฟอกซ้ำด้วย NaOCl 0.3 เปอร์เซ็นต์ อีกครั้งด้วยเวลาเท่ากัน ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ลอกกาบหุ้มออกจนหมด เอาชิ้นส่วนที่ได้มาตัดแยกออกเป็น ตาข้าง ใบอ่อน และ ปลายยอด นำมาเพาะบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน (cytokinins) ชนิด TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/ลิตร เติมวุ้น (agar) 7 กรัม/ลิตร น้ำตาล 30 กรัม/ลิตร ปรับค่า pH เท่ากับ 5.80 บรรจุไว้ในขวดขนาด 4 ออนซ์ ปริมาณอาหาร 20 มิลลิลิตร/ขวด นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 8 สัปดาห์ ในสภาพห้องเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2,300 lux นาน 16 ชั่วโมงต่อวันเปลี่ยนย้ายอาหารสูตรเดิมที่เตรียมใหม่ทุก 4 สัปดาห์ บันทึกการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) 5 ซ้ำ

**ชนิดและความเข้มข้นของสารไซโตไคนินที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณต้นอ่อน**

นำหน่ออ่อนที่เจริญจากเหง้าที่มีความยาวประมาณ 5 เซนติเมตรมาล้างฆ่าเชื้อบริเวณผิวนอกเช่นเดียวกับวิธีที่กล่าวไว้ข้างต้น แล้วนำมาลอกกาบใบ

ออกให้หมด ตัดเอาชิ้นส่วนตาข้างมาเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA Kinetin (Kn) หรือ TDZ ในอัตราที่แตกต่างกัน 7 สูตร (Table 1) โดยทุกสูตรอาหารเติมวุ้น 7 กรัม/ลิตร น้ำตาล 30 กรัม/ลิตร ปรับค่า pH เท่ากับ 5.80 นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลานาน 8 สัปดาห์ ในสภาพห้องเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 2,300 lux นาน 16 ชั่วโมงต่อวัน เปลี่ยนอาหารใหม่โดยใช้สูตรเดิมทุก 4 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบ CRD 3 ซ้ำ

**Table 1 Types and concentrations of plant growth regulator in basal MS medium for microprogation of *Curcuma aromatica* Salisb.**

| Treatment | Plant growth regulator | Concentration (mg/l) |
|---|---|---|
| 1 | BA | 0 |
| 2 | BA | 1 |
| 3 | BA | 2 |
| 4 | Kn | 1 |
| 5 | Kn | 2 |
| 6 | TDZ | 1 |
| 7 | TDZ | 2 |

## ผลการทดลองและวิจารณ์

### ชิ้นส่วนเริ่มต้นที่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เมื่อนำชิ้นส่วนต่างๆของว่านนางคำมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มี TDZ 2 มก./ลิตร ได้นาน 8 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนของใบอ่อนไม่มีการพัฒนาใดๆ เนื้อเยื่อมีการเปลี่ยนสีจากเขียวอ่อนไปเป็นสีน้ำตาลเข้มแล้วกลายเป็นสีดำในที่สุด ส่วนตาข้าง และ ปลายยอดนั้นมีการสร้างส่วนยอด และรากออกมาใหม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยที่ตาข้างมีการเจริญพัฒนาและสร้างยอดใหม่ได้สูงสุดคือ เฉลี่ย 12.2 ยอดต่อชิ้นส่วน และจากชิ้นส่วนปลายยอดมีการเจริญพัฒนาเป็นยอดแขนงได้เฉลี่ย 7.4 ยอดต่อชิ้นส่วน (Table 2) แสดงว่าเนื้อเยื่อตาข้างมีแนวโน้มที่เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและเพิ่มปริมาณในสภาพปลอดเชื้อของว่านนางคำ ทั้งนี้อาจเนื่องจากส่วนปลายยอดและตาข้างมีส่วนเนื้อเยื่อเจริญและจุดกำเนิดใบที่พร้อมที่จะเจริญเป็นยอดใหม่ได้เมื่อได้รับอิทธิพลจาก TDZ ซึ่งเป็นไซโตไคนินที่มีคุณสมบัติส่งเสริมการสร้างยอด จึงทำให้มีการเจริญสร้างยอดแขนงจำนวนมาก ในขณะที่ชิ้นส่วนใบมีส่วนประกอบของเนื้อเยื่อถาวรคือ พาเรนคิมา (parenchyma) เป็นส่วนใหญ่ (Esau, 1965)

### ชนิดและความเข้มข้นของสารไซโตไคนินที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดแขนงของว่านนางคำ

เมื่อเพาะเลี้ยงตาข้างว่านนางคำบนอาหารสังเคราะห์ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินที่แตกต่างกัน เป็นเวลานาน 8 สัปดาห์พบว่า ชนิดของสารไซโตไคนินส่งผลต่อการสร้างยอดแขนงของว่านนางคำ ทำให้มีจำนวนยอดต่อชิ้นส่วน ความยาวยอด และจำนวนรากต่อชิ้นส่วนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (Table 3) สาร TDZ ชักนำให้เกิดการสร้างยอดแขนงได้จำนวนมากที่สุด ทั้งที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเฉลี่ย 9.0 และ 12.2 ยอดต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ รองลงมาคือ BA ที่ความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วน Kn ส่งผลให้เนื้อเยื่อตาข้างมี

การพัฒนาสร้างยอดแขนงได้จำนวนน้อยที่สุด และพบว่าชนิดไซโตไคนินมีผลต่อความยาวยอดด้วย กล่าวคือยอดแขนงที่เจริญพัฒนาได้จากเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงไว้บนอาหาร BA และ TDZ มียอดสั้นกว่าที่ได้จากอาหารที่เติม Kn และอาหารที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (Table 3) ผลต่อการสร้างรากพบว่าเนื้อเยื่อที่เจริญได้บนอาหารที่เติม TDZ มีจำนวนรากต่อชิ้นส่วนพืชต่ำที่สุดคือ 1 รากต่อชิ้นส่วน การที่ TDZ ส่งผลกระตุ้นให้เนื้อเยื่อมีการสร้างยอดแขนงได้ดีกว่าไซโตไคนินชนิดอื่นๆ อาจเนื่องจาก TDZ เป็นไซโตไคนินที่มีคุณสมบัติในการชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์ การเปลี่ยนแปลงรูปร่างและหน้าที่ของเนื้อเยื่อพืชกระตุ้นการสร้างยอดแขนงได้มีประสิทธิภาพสูงกว่าไซโตไคนินชนิดอื่นๆ ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (Nayak et al., 1997)

**Table 2 Type of *Curcuma aromatica* Salisb. tissue for affecting to number of adventitiuous shoots and roots and shoot length.**

| Explants | Shoot number (shoot/explant) | Shoot length[1/] (cm) | Root number[1/] (root/explant) |
|---|---|---|---|
| lateral bud | 12.2[a] | 1.52[b] | 6.2[a] |
| young leave | 0.0[b] | 0.00[c] | 0.0[b] |
| shoot tip | 7.4[a] | 4.22[a] | 6.6[a] |
| F-test | ** | ** | ** |
| C.V. (%) | 25.9 | 26.31 | 25.69 |

**significantly diferrent at P<0.01

**Table 3 Effect of different kinds and concentrations of cytokinins adding to MS media on growth and development of cultured lateral bud of *Curcuma aromatica* Salisb.**

| Plant Growth Regulators (mg/l) | | | Shoot number[1/] | Shoot length[1/] | Root number[1/] |
|---|---|---|---|---|---|
| BA | Kn | TDZ | (shoot/explant) | (cm) | (root/explant) |
| - | - | - | 1.0[d] | 8.8[a] | 6.4[ab] |
| 1 | - | - | 6.2[bc] | 3.9[b] | 8.0[a] |
| 2 | - | - | 6.8[bc] | 3.3[bc] | 8.6[a] |
| - | 1 | - | 2.2[cd] | 7.7[a] | 9.4[a] |
| - | 2 | - | 1.4[d] | 9.5[a] | 8.6[a] |
| - | - | 1 | 9.0[ab] | 1.3[bc] | 1.0[b] |
| - | - | 2 | 12.2[a] | 0.9[c] | 1.0[b] |
| F-test | | | ** | ** | ** |
| C.V. (%) | | | 41.33 | 29.62 | 30.58 |

**significantly diferrent at P<0.01

## สรุปผลการทดลอง

ชิ้นส่วนที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่านนางคำคือ ชิ้นส่วนตาข้างโดยให้จำนวนยอดแขนงมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชิ้นส่วนอื่นๆ คือ ใบอ่อน และปลายยอด อาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงและเพิ่มปริมาณยอดแขนงของว่านนางคำในสภาพปลอดเชื้อคือ อาหาร MS ที่เติม TDZ ในอัตรา1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

## เอกสารอ้างอิง


รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ. 2540. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

องค์การเภสัชกรรม. 2550. เคอร์คูมินอยด์ (Curcuminoids) จากขมิ้นชัน. (cited Sep 5, 2007) Available from: http://www.gpo.or.th/cur min/ curcuminoids.asp.

Esau, Katherine. 1965. Plant Anatomy. USA.

Nature Products. 2007. Zingiberaceae *Curcuma aromatic* Salisb. (cited Sep 25, 2007) Available from : http://www.nature-products.net/Forest_Products/Gingers/ Curcuma aromatica.html.

Nayak, N.R., S. Rath, .P. and S. Patnaik, 1997. *In vitro* propagation of three epiphytic orchids, *Cymbidium aloifolium* (L) SW., *Dendrobium alphyllum* (Roxb.) Fisch. and *Dendrobium moschatum* (Buch-Ham) SW. through thidiazuron-induced high frequency shoot proliferation. Scientia Horticulture. 71: 243-250.

Pitasawat, B., W. Choochote, B. Tuetun, P. Tippawangkosol, D. Kanjanapothi, A. Jitpakdi and D. Riyong. 2003. Repellency of aromatic turmeric Curcuma aromatic underlaboratory and field conditions. Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Thailand.

Thai Nutritional & Herbs Center. 2007. Food & Herb. (cited Sep 3, 2007) Available from: http://www.thaifitway. com/Education/ Ndata/N2db/question. asp?QID=3.