

ผลของออกซินต่อการงอกของเมล็ดและการพัฒนาของต้นกล้า หนอนตายหยากในสภาพปลอดเชื้อ

Effect of auxins on seeds germination and seedlings development of *Stemona curtisii* Hook. f. *in vitro*

นัตยา มนตรี^{1*}, กิรติ ข่อยแก้ว¹, สุกัญญา แสนภักดี¹ และ อัญญา จันทระพิท¹

Nattaya Montri^{1*}, Keerati Khoikeaw¹, Sukanya Saenphakdi¹ and Anjana Junpatiw¹

บทคัดย่อ: การศึกษาผลของออกซินชนิดและความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการงอกของเมล็ดและการพัฒนาของต้นกล้าหนอนตายหยาก (*Stemona curtisii* Hook. f.) ในสภาพปลอดเชื้อ โดยการเก็บฝักหนอนตายหยากที่มีสีเขียวจากธรรมชาติ และนำเมล็ดมาเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1964) ที่เติมออกซินชนิดต่างๆ ได้แก่ 2,4-dicholophenoxyacetic acid (2,4-D), indole acetic acid (IAA), indole-3-butyric-acid (IBA) หรือ α -naphthalene acetic acid (NAA) ที่ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มก./ล. เป็นเวลา 2 เดือน พบว่า เมล็ดหนอนตายหยากมีการตอบสนองต่อการออกซินทุกชนิด โดยที่ความเข้มข้นแตกต่างกันมีผลต่อการพัฒนาของเมล็ดได้แตกต่างกันไป เช่น การพัฒนาไปเป็นยอด รากและแคลลัส การเติม IBA มีผลต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตต้นกล้าได้ดี และต้นกล้าที่เจริญในอาหารที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.4 มก./ล. มีจำนวนรากมากที่สุด คือ 4.0 ราก ($P<0.05$) ในขณะที่ต้นกล้าในอาหารที่เติม IAA ความเข้มข้น 0.8 มก./ล. มีความยาวรากมากที่สุด คือ 4.11 ซม ($P<0.05$).

คำสำคัญ: หนอนตายหยาก, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ABSTRACT: Effect of various types and concentrations of auxins on *Stemona curtisii* Hook. f. seeds germination and seedlings development *in vitro* were investigated. Green pods were collected from natural habitat and seeds were cultured on solid Murashige and Skoog (MS, 1964) supplemented with different types of auxins; 2,4-dicholophenoxyacetic acid (2,4-D), indole acetic acid (IAA), indole-3-butyric-acid (IBA) or α -naphthalene acetic acid (NAA) at concentrations of 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 and 1.0 mg/l. After 2 months of culture period, the results showed that seeds responded to all types of auxins. However, different concentrations of auxins had effect on seed development; shoots, roots and callus formation. The media supplemented with IBA promoted seedling growth. The highest root numbers (4.00 roots) were achieved from 0.4 mg/l IBA treatments ($P<0.05$) while 0.8 mg/l IAA treatments gave the maximum root length (4.11 cm) ($P<0.05$).

Keywords: *Stemona curtisii*, tissue culture

¹ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพรเขตรอุดมศักดิ์ จังหวัดชุมพร

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Prince of Chumphon Campus, Chumphon Province

* Corresponding author: kmnattay@kmitl.ac.th

บทนำ

หนอนตายหยาก (*Stemona curtisii* Hook.f.) เป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Stemonaceae พบกระจายบริเวณป่าชายหาดของภาคใต้ ปัจจุบันมีการนำสารสกัดจากรากหนอนตายหยากมาใช้ในการเกษตรอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะเป็นทางเลือกของวิธีการควบคุมศัตรูพืชแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ เช่น การควบคุมหนอนกระตุ้ผัก (*Spodoptera littoralis*) (Kaltenegger, 2003) และการยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum musae* ที่เป็นสาเหตุการเกิดโรคแอนแทรกซ์ของกล้วยหอมทอง (นาตยา และคณะ, 2553) เพื่อให้ได้ผลผลิตทางการเกษตรที่มีความปลอดภัยจากสารเคมีตกค้าง โดยในส่วนของรากหนอนตายหยากมีสารอัลคาลอยด์ที่สามารถละลายน้ำได้ง่าย และสลายตัวเร็ว ทำให้ไม่เป็นอันตรายต่อเกษตรกรและผู้บริโภค จากความต้องการนำไปใช้ประโยชน์ที่เพิ่มขึ้นนี้ ทำให้มีการเก็บรากของหนอนตายหยากในสภาพธรรมชาติมาใช้ปริมาณมากขึ้น อีกทั้งปัญหาดินชะตหายฝั่งในแต่ละปีทำให้หนอนตายหยากชนิดนี้ตายเป็นจำนวนมาก ส่งผลให้ประชากรลดน้อยเป็นจำนวนมากต่อปี จึงได้มีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในการขยายพันธุ์ให้ได้ปริมาณมากขึ้น ซึ่งในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้น ฮอร์โมนพืชมีความสำคัญต่อการพัฒนาของชิ้นส่วนพืช ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว ออกซินเป็นฮอร์โมนที่มีส่วนช่วยเร่งการเจริญเติบโต มีผลกระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์ การยึดตัวของเซลล์ และยังมีผลกระตุ้นการเกิดราก การเจริญเติบโตในส่วนต่างๆ ของพืช (พีรเดช, 2537) และได้มีรายงานการนำออกซินไปใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหนอนตายหยาก *S. curtisii* เช่น สุรชาติ (2551) พบว่า เมล็ดหนอนตายหยากสามารถงอกและเกิดรากได้ดีในอาหารที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้น 8 มก./ล. ในขณะที่ 2, 4-D ความเข้มข้นต่ำ 0 - 2 มก./ล. ส่งเสริมให้เกิดแคลลัส แต่ความเข้มข้นดังกล่าวมีผลต่อการตอบสนองในอาหารสูตรชักนำให้เกิดยอดในระยะเวลาต่อมา และ Montri et al. (2012) พบว่า การเลี้ยงเมล็ดในอาหารที่เติม 2, 4-D ในสภาพมืด มีการส่งเสริมให้

เกิดแคลลัสได้ดี และที่ความเข้มข้น 0.4 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ถึง 62.5 % อย่างไรก็ตามเนื่องจากในหนอนตายหยากนั้น ส่วนของรากทำหน้าที่ผลิตสารทุติยภูมิ ซึ่ง นาตยา (2549) ได้รายงานว่าส่วนของรากที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นสามารถสร้างสารทุติยภูมิได้เช่นเดียวกับสารที่พบในสภาพธรรมชาติ และต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมื่อนำไปปลูกแล้วสามารถผลิตสารทุติยภูมิได้เช่นกัน ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาผลของออกซิน ต่อการงอกและการพัฒนาของเมล็ดโดยเฉพาะส่วนของราก เพื่อนำไปสู่การผลิตต้นพันธุ์เชิงการค้า และนำต้นกล้าไปใช้ในการผลิตสารสำคัญได้ในระดับแปลงปลูกต่อไป

วิธีการศึกษา

นำเมล็ดหนอนตายหยากมาฟอกฆ่าเชื้อและเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1964) หลังเมล็ดงอกเป็นเวลา 1 สัปดาห์ นำเมล็ดที่ปลอดเชื้อแล้ว มาใช้ในการทดลองเพื่อศึกษาผลของออกซินต่อการงอกและการพัฒนาของเมล็ด โดยวางแผนการทดลองแบบ 4x6 Factorial in Completely Randomized Design (4 X 6 Factorial in CRD) ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 ชนิดของออกซิน ได้แก่ 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), indole-3-acetic acid (IAA), indole-3-butyric acid (IBA) และ α -naphthalene acetic acid (NAA) ปัจจัยที่ 2 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มก./ล. ในแต่ละกรรมวิธีมีจำนวนซ้ำ 10 ซ้ำ ทำการทดลอง 2 ครั้ง โดยนำเมล็ดมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมออกซินชนิดและความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 2 เดือน บันทึกความยาวยอด จำนวนยอด ความยาวราก และจำนวนรากของต้นกล้า จากนั้นทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan Multiple's Rang Test (DMRT) ที่ความเชื่อมั่น 95 %

ผลและวิจารณ์ผล

จากการทดลองเลี้ยงเมล็ดในอาหารที่เติมออกซินชนิดต่าง ๆ ความเข้มข้น 0-1 มก./ล.เป็นเวลา 2 เดือนพบว่า เมล็ดมีการพัฒนา 3 แบบได้แก่ การพัฒนาไปเป็นแคลลัส (Figure 1A) ต้นกล้าและแคลลัส (Figure 1B) และงอกเป็นต้นกล้าสมบูรณ์ (Figure 1C) โดยชนิดของออกซินที่ส่งเสริมการพัฒนาเมล็ดให้งอกและต้นกล้ามีการเกิดรากมากที่สุดคือ IBA โดยที่ความเข้มข้น 0.4 มก./ล.มีการเกิดยอดและรากมากที่สุดที่ 2.57 ยอด และ 4.0 ราก (Figure 2 และ 5) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก IBA เป็นสารที่มีฤทธิ์ของออกซินค่อนข้างต่ำ เคลื่อนย้ายได้ช้า และสลายตัวได้เร็วพอประมาณ มีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการเร่งในการเกิดรากได้ดี (สมบัติ, 2544) สอดคล้องกับ Supe และคณะ (2006) รายงานว่าเมื่อนำเมล็ด *Ashwagandha* (*Withania somnifera*) มาเลี้ยงบนอาหาร IBA ที่ความเข้มข้น 0.4 มก./ล.สามารถเกิดราก 90 เปอร์เซ็นต์ การเลี้ยงเมล็ดในอาหารที่เติม 2,4-D พบว่าต้นกล้ามีความสูงต้น ความยาวยอด ความยาวราก จำนวนยอด และจำนวนราก มีแนวโน้มต่ำลงเมื่อความเข้มข้นของ 2,4-D สูงขึ้น

(Figure 2-5) เช่นเดียวกับการเลี้ยงเมล็ดหนอนตายหยากในอาหารที่เติม NAA พบว่าความเข้มข้นต่ำให้ผลดีกว่าการเลี้ยงในอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้นสูง (Figure 2-5) อาจเนื่องจาก 2,4-D และ NAA มีฤทธิ์ของออกซินค่อนข้างสูง และการใช้ออกซินที่ความเข้มข้นสูงเกินไปทำให้ผลในเชิงลบต่อการพัฒนาของเมล็ด ซึ่งสอดคล้องกับ Usman และคณะ (2001) ที่ได้ทดลองในแตงกวา พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้นสูง มีผลในการยับยั้งการงอกของเอ็มบริโอที่ได้จากการเพาะเลี้ยงส่วนของใบ ส่วนความเข้มข้นของ 2,4-D ที่ 0 มก./ล. (Figure 2-5) มีความเหมาะสมต่อการพัฒนาเมล็ดไปเป็นต้นกล้ามากที่สุด และจากการทดลองครั้งนี้ พบว่า ความยาวยอด จำนวนยอด ความยาวราก และจำนวนรากไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละความเข้มข้นของ IAA อย่างไรก็ตามที่ความเข้มข้น 0.6 มก./ล.มีความยาวยอด มากที่สุดคือ 4.36 ซม. (Figure 4) ตามลำดับ ส่วนความยาวราก พบว่าต้นกล้าในอาหารที่เติม IAA ความเข้มข้น 0.8 มก./ล.มีความยาวรากมากที่สุด คือ 4.11 ซม. (Figure 4) ทั้งนี้อาจเนื่องจาก IAA มีผลกระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์ และการยืดตัวของเซลล์ (พีรเดช, 2537)

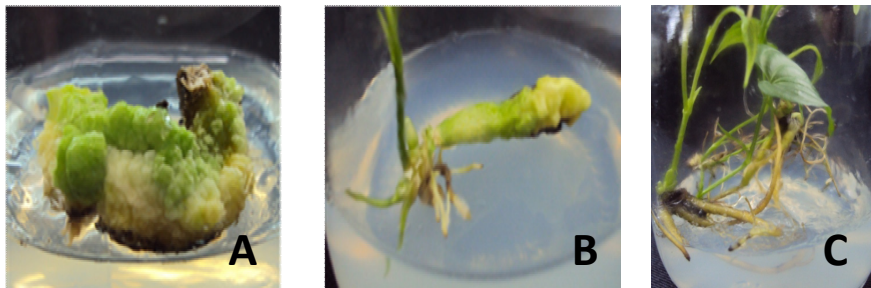


Figure 1 Characteristics of callus (A), seedling with callus formation (B) and seedlings (C) of *Stemona curtisii* Hook. f.

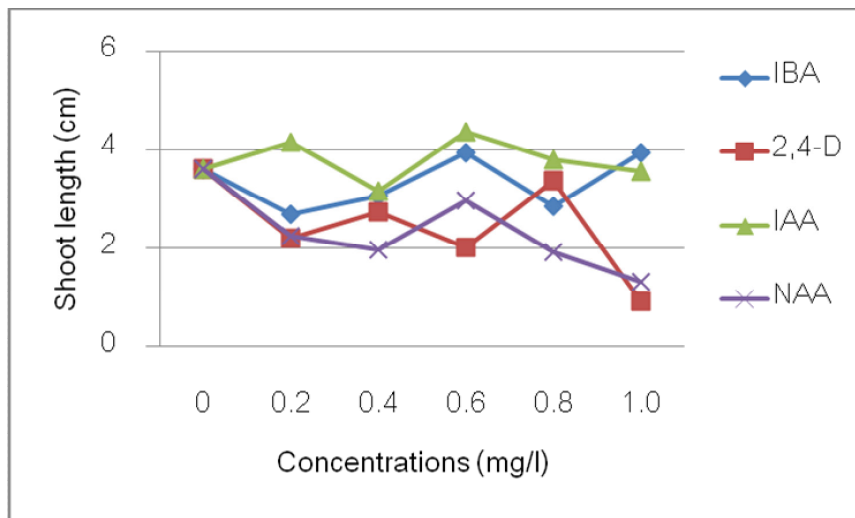


Figure 2 Shoot length of *Stemona curtisii* Hook. f. seedlings after cultured seed on Murashige and Skoog (MS, 1964) medium supplemented with various types and concentrations of auxins for 2 months.

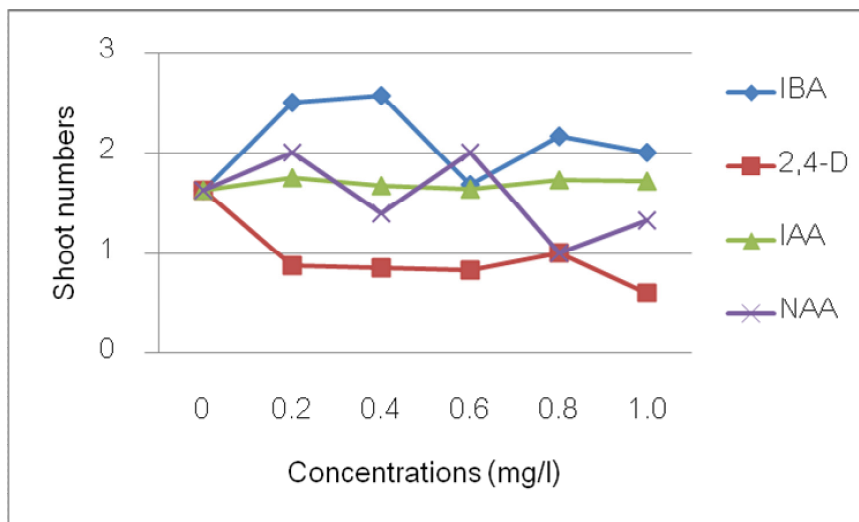


Figure 3 Shoot numbers of *Stemona curtisii* Hook. f. seedlings after cultured seed on Murashige and Skoog (MS, 1964) medium supplemented with various types and concentrations of auxins for 2 months.

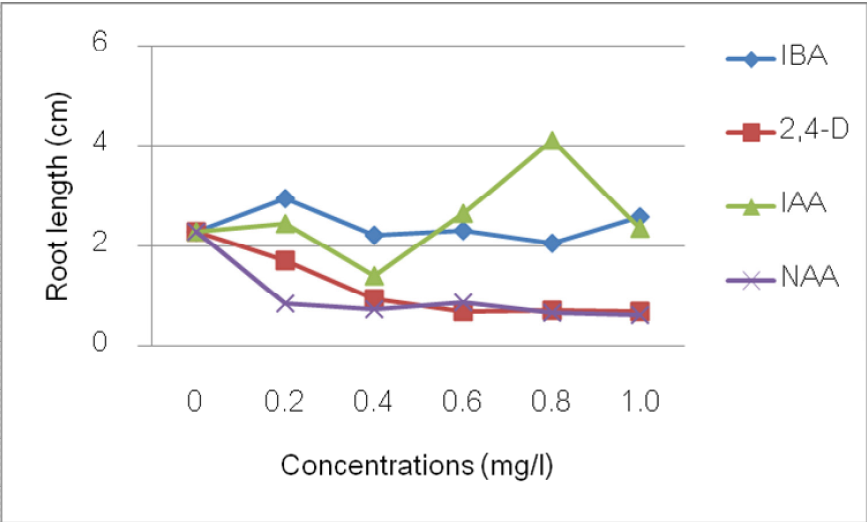


Figure 4 Root length of *Stemonon curtisii* Hook. f. seedlings after cultured seed on Murashige and Skoog (MS, 1964) medium supplemented with various types and concentrations of auxins for 2 months.

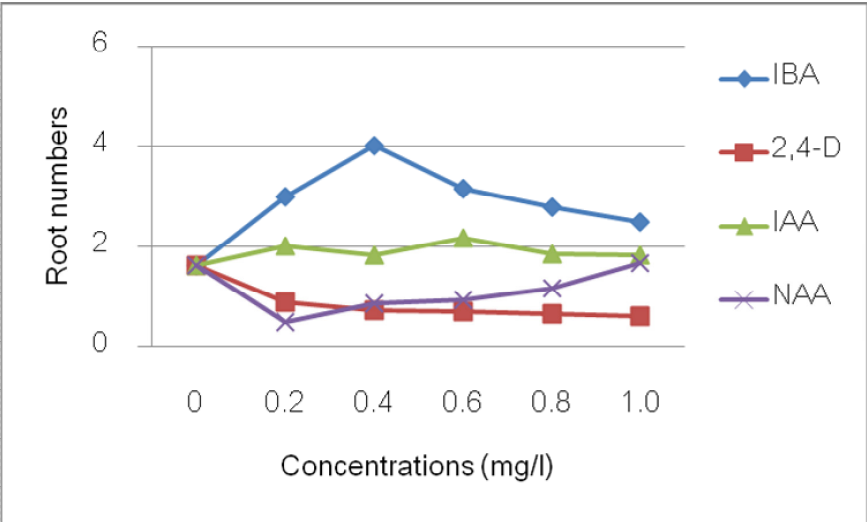


Figure 5 Root numbers of *Stemonon curtisii* Hook. f. seedlings after cultured seed on Murashige and Skoog (MS, 1964) medium supplemented with various types and concentrations of auxins for 2 months.

สรุป

จากการศึกษาผลของออกซินต่อการงอกและการพัฒนาของเมล็ดหนอนตายหยาก พบว่า การเพาะเมล็ดในอาหารที่เติม IBA มีผลต่อการส่งเสริมการการเจริญเติบโตของต้นกล้ามากที่สุด และต้นกล้าที่ได้จากอาหารที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.4 มก./ล.มีจำนวนรากมากที่สุด ที่ 4.0 ราก

คำขอบคุณ

โครงการวิจัยนี้อยู่ภายใต้โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ ของสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี และได้รับการสนับสนุนงบประมาณงานวิจัยส่วนหนึ่งจากโครงการวิจัยเงินงบประมาณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร เขตอุดมศักดิ์

เอกสารอ้างอิง

- นาตยา มนต์รี. 2549. การขยายพันธุ์หนอนตายหยาก (*Stemona curtisii* Hook.f.) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. น. 1-10 ใน: ประชุมวิชาการ ม.อุบล วิจัย ครั้งที่ 1 27-29 กรกฎาคม 2549. มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, อุบลราชธานี.
- นาตยา มนต์รี, กนกพร บุญญะอดิชาติ, และ พงศ์พล ลือจันทิก. 2553. ผลของการใช้สารสกัดจากหนอนตายหยากต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของกล้วยหอมทอง. ว. วิทย. กษ. 41 (1) (พิเศษ): 333-336.
- พีรเดช ทองอำไพ. 2537. ฮอริโมนพืชและสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. สำนักพิมพ์วี.บี. บ็อคเซนเตอร์, กรุงเทพฯ.
- สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2544. สรีรวิทยาของพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สุชาติ ไชยศรีหา. 2551. การชักนำให้เกิดแคลลัสของหนอนตายหยาก. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี หลักสูตรพืชสวน สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร วิทยาเขตชุมพร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- Kaltenegger, E., B. Brem, Mereiter, K. Kalchhauser, H. Kahlig, H. Hofer, O. Vajrodaya, and H. Greger. 2003. Insecticidal pyrido (1,2-a)azepine alkaloids and related derivatives from *Stemona* species. *Phytochemistry*. 63:803-816.
- Montri, N., S. Chaisirha, and C. Suwanphakdee. 2012. Callus induction of *Stemona curtisii* Hook.f. *Acta Hort*. 961:273-278.
- Usman, M., Z. Hussain, and B. Fatima. 2001. Somatic embryogenesis and shoot regeneration induced in cucumber leaves. *Pak. J. Bot.* 43(2): 1283-1293
- Supe, U., F. Dhote, and M. G. Roymon. 2006. *In vitro* plant regeneration of *Withania somnifera*. *Plant Tissue Cult & Biotech.* 16(2): 111-115.