วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ ปีที่ 3 ฉบับพิเศษ (II): M02/8-11, 2559
Songklanakarin Journal of Plant Science, Vol. 3, Suppl. (II): M02/8-11, 2016

Research article

การขยายพันธุ์ดาหลาขาวด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Micropropagation of White Torch Ginger

อรุณี ม่วงแก้วงาม [1*]
Muangkaewngam, A. [1*]

[1] คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา อ.เมือง จ.ยะลา 95000
[1] Faculty of Science Technology and Agriculture Yala Rajabhat University, Muang, Yala 95000

** Corresponding author: muangkaewngam.arunee@gmail.com*

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาหลาขาวโดยการนำชิ้นส่วนยอด (ขนาด 0.5 ซม) จากในหลอดทดลอง วางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige และ Skoog (MS) เติม Benzyladenine (BA) 5 ความเข้มข้น (1.0 2.0 3.0 4.0 และ 5.0 มก/ล) วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ภายใต้ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน หลังจากวางเลี้ยง 8 สัปดาห์ พบว่า BA ทุกความเข้มข้นให้อัตราการสร้างยอดรวมได้ 100% ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนจำนวนยอดรวมนั้นอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มก/ล ให้ผลดีที่สุด 6.50 ยอดต่อชิ้นส่วน แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้นอื่น ๆ เมื่อตัดแยกยอดเดี่ยว ๆ มาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม Indolebutylic acid (IBA) 6 ความเข้มข้น (0 1.0 2.0 3.0 4.0 และ 5.0 มก/ล) พบว่าอาหารที่เติม IBA ความเข้มข้น 3 มก/ล ให้ความสามารถในการเกิดรากสูงสุด 93.33% จำนวนราก และความยาวรากเฉลี่ย 2.50 ราก/ต้น และ 3.96 ซม ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้นอื่น ๆ
คำสำคัญ: สารควบคุมการเจริญเติบโต การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ดาหลาขาว

Abstract

The effect of plant growth regulators on proliferation of shoots of *Etlingera elatior* was investigated. Initial shoot explants (0.5 cm in length) were cultured on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with benzylandenine (BA) at five different concentrations (1.0, 2.0, 3.0, 4.0 and 5.0 mg/L). All cultures were incubated at 25±2 $^{\circ}$ C under cool white fluorescent light at intensity of 2,000 lux for 16 hours/day and maintained for 8 weeks. At the end of this period a 100% of multiple shoot formation was obtained from MS medium supplemented with BA at all concentrations. As regards the number of shoots, 3 mg/L BA containing the medium gave the highest number of shoots at 6.50 shoots/cultured shoot tip which was significantly different when compared to another concentrations. Excised single shoots were transferred to cultured on MS medium supplemented with Indolebutylic acid (IBA) at six different concentrations (0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 and 5.0 mg/L). The maximum percentage of root formation at 93.33% was obtained from MS medium supplemented with IBA at 3 mg/L. A number of roots and root length were 2.50 roots/shoot and 3.96 cm respectively, significant difference with the other four concentrations.
Keywords: plant growth regulator, plant tissue culture, torch ginger

บทนำ

ดาหลา (*Etlingera elatior*) อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae (Abdelmageed *et al*., 2011) เป็นไม้ดอกพื้นเมืองของ 3 จังหวัดชายแดนภาคใต้ มีลำต้นเป็นเหง้าอยู่ใต้ดิน ชอบขึ้นเป็นกลุ่มกอ กลีบซ้อนทับกันหลายชั้น กลีบชั้นนอกมีขนาดใหญ่ และค่อยลดขนาดลงเป็นลำดับในวงชั้นใน มีขนาดดอกกว้างตั้งแต่ 4 นิ้วขึ้นไป ดาหลามีความสำคัญและมีการนำมาใช้ประโยชน์หลายอย่าง เช่น ใช้ประกอบอาหาร ทำเครื่องดื่ม มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Chan *et al.,* 2008 อ้างโดย สมพร, 2558) ปัจจุบันมีการใช้ประโยชน์ในรูปแบบที่หลากหลายขึ้น เช่น ใช้เป็นไม้ตัดดอก (Lekawatana and Pituck, 1998) ใช้เป็นพืชสมุนไพร (ชะลอ, 2542) ความนิยมใช้ดอกดาหลาเริ่มมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเป็นเหตุให้มีเกษตรกรจำนวนหนึ่งเริ่มหันมาปลูกดาหลาเป็นการค้าอย่างจริงจัง สำหรับราคาดอกดาหลานั้นประมาณ 8–50 บาท ขึ้นอยู่กับความต้องการของผู้ใช้และฤดูกาล

ส่วนราคาหน่อพันธุ์นั้นมีตั้งแต่ 50-300 บาท แตกต่างกันไปตามชนิดของดาหลา การขยายพันธุ์ดาหลาทำได้หลายวิธี เช่น วิธีการเพาะเมล็ดซึ่งไม่เป็นที่นิยมเนื่องจากเป็นพืชผสมข้าม มีโอกาสกลายพันธุ์ วิธีการแยกหน่อจากส่วนลำต้นใต้ดินซึ่งมีโอกาสได้รับเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิด rhizome rot disease สูง สำหรับการขยายพันธุ์ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งสามารถขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็วและได้ปริมาณมาก Mahamad และคณะ (2012) ทดลองวางเลี้ยงส่วนหน่อดาหลาบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA และ Kinetin (KN) ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า BA ทุกระดับความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดยอดรวมได้ดีกว่า KN อรุณี (2557) รายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาหลาโดยการวางเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA สามารถชักนำให้เกิดยอดรวมได้สูงกว่า KN โดย BA ความเข้มข้น 3 มก/ล ให้จำนวนยอดรวมเท่ากับ 10.62 ยอดต่อชิ้นส่วน ดาหลาที่ทำการทดลองส่วนใหญ่เป็นดาหลาสีชมพูซึ่งมีมูลค่าต่ำกว่าดาหลาสีขาว เนื่องจากดาหลาสีขาวขยายพันธุ์ได้ช้ากว่า และจำนวนหน่อที่เกิดขึ้นต่อปีน้อยกว่าดาหลาสีอื่น ๆ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการเกิดยอดรวม และผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ต่อการเกิดรากของดาหลาสีขาว เพื่อให้ได้ดาหลาสีขาวปริมาณมากเป็นการค้าต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ในการศึกษาใช้ยอดดาหลาสีขาวที่ขยายพันธุ์ได้จากยอดรวมที่ชักนำบนอาหารสูตร MS ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา โดยนำยอดรวมดาหลาสีขาวมาตัดแยกให้เป็นยอดเดี่ยว ๆ ขนาด 0.50 ซม นำมาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA 5 ระดับความเข้มข้น (1.0 2.0 3.0 4.0 และ 5.0 มก/ล) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกอัตราการเกิดยอดรวม และจำนวนยอด เปรียบเทียบกันในแต่ละระดับความเข้มข้นของ BA จากนั้นตัดแยกแต่ละยอดมาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม IBA 6 ระดับความเข้มข้น (0 1.0 2.0 3.0 4.0 and 5.0 มก/ล) เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกอัตราการเกิดราก จำนวนราก และความยาวราก เปรียบเทียบกันในแต่ละระดับความเข้มข้นของ IBA ทั้งสองขั้นตอนวางเลี้ยงภายใต้สภาวะการให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design, CRD) แต่ละทรีตเมนต์ทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 20 ชิ้นส่วน วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นไม่น้อยกว่าร้อยละ 95

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เมื่อนำชิ้นส่วนยอดดาหลาสีขาววางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าชิ้นส่วนยอดดาหลาสีขาวมีการเจริญเติบโตในทุกระดับความเข้มข้น หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ และอาหารทุกสูตรให้อัตราการสร้างยอดรวมไม่แตกต่างกันทางสถิติ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำยอดรวมได้สูงสุดร้อยละ 100 และให้จำนวนยอดรวมเฉลี่ยสูงสุด 6.50 ยอดต่อหนึ่งชิ้นส่วนที่วางเลี้ยง แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้นอื่น ๆ (Table 1 Figure 1) การเจริญเติบโตของยอดใหม่จากการวางเลี้ยงส่วนยอดของดาหลาสีขาวในอาหารสูตร MS เติม BA ทุกระดับความเข้มข้นเกิดขึ้นโดยผ่านกระบวนการเกิดยอดใหม่โดยตรง (direct shoot organogenesis) โดยระดับความเข้มข้นของ BA ที่สามารถชักนำยอดรวมได้สูงสุดคือ 3 มก/ล เมื่อเปรียบเทียบกับดาหลาสีชมพูพบว่าการวางเลี้ยงส่วนยอดบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA ระดับความเข้มข้น 3 มก/ล จะให้จำนวนยอดสูงกว่าโดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 10.62 ยอด (อรุณี, 2557) ในกรณีของการเพาะเลี้ยงส่วนยอด *Zingiber zerumbet* Smith บนอาหารสูตร MS เติม BA พบว่าระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมกับการชักนำยอดรวมคือ 5 มก/ล (Faridah *et al*., 2011) ซึ่งสูงกว่าระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดของการเพาะเลี้ยงดาหลาสีขาวในการทดลองนี้ แม้ว่าจะเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae เช่นเดียวกันแต่ตอบสนองต่อความเข้มข้นของ BA ที่แตกต่างกัน ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะปัจจัยภายในของพืชที่แตกต่างกัน เช่น ปัจจัยทางพันธุกรรมของพืชแต่ละชนิด อายุของชิ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยง (รังสฤษฎ์, 2540) การที่สารควบคุมการเจริญเติบโต BA สามารถชักนำให้เกิดยอดได้จำนวนมาก เนื่องจาก BA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินที่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการเจริญเติบโตทางด้านลำต้น การแบ่งเซลล์ และการเจริญเติบโตของตาข้าง

เมื่อชักนำยอดรวมได้จำนวนมากจึงทำการตัดแยกยอดรวมให้เป็นยอดเดี่ยว ๆ และวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อชักนำราก ผลการทดลองพบว่า ความสามารถในการเกิดรากของยอดดาหลาสีขาวให้ผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กล่าวคือเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของ IBA ขึ้น ความสามารถในการสร้างรากมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น สูงสุดที่ระดับความเข้มข้น 3 มก/ล เฉลี่ย 93.33% (Table 2) เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ IBA สูงกว่า 3 มก/ล ส่งผลให้ความสามารถในการเกิดรากกลับลดลง เป็นไปในทำนองเดียวกันทั้งจำนวนรากและความยาวราก โดย IBA ระดับความเข้มข้น 3 มก/ล ให้จำนวนรากและความยาวรากเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 2.50 ราก และ 3.96 ซม ตามลำดับ (Figure 2) สารควบคุมการเจริญเติบโต IBA เป็นสารในกลุ่มออกซินที่มีคุณสมบัติชักนำการสร้างราก นิยมใช้กับการขยายพันธุ์พืชด้วยวิธีการปักชำ หรือตอนกิ่ง ซึ่งการตอบสนองต่อการเกิดรากจะลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นของ IBA สูงกว่า 3 มก/ล ในขณะที่ Abdelmageed และคณะ (2011) รายงานว่าการชักนำรากของดาหลาสามารถทำได้โดยใช้ IAA แม้ว่าจะเป็นสารในกลุ่มออกซินเช่นเดียวกันแต่

Muangkaewngam (2016)

พันธุ์ที่ต่างกันให้การตอบสนองที่แตกต่างกัน ส่วนความเข้มข้นนั้นหากใช้สูงขึ้นก็ส่งผลยับยั้งการเกิดรากเช่นเดียวกัน สารในกลุ่มออกซินแต่ละชนิดมีความสามารถในการกระตุ้นการเกิดรากในพืชวงศ์ขิงได้แตกต่างกัน จากรายงานทางวิชาการพบว่าถ้าเป็นดาหลาจะใช้ IBA หรือ IAA แต่ถ้าเป็นขมิ้นชันพบว่าสาร NAA สามารถชักนำการสร้างรากได้ดีกว่า (ปริญา และคณะ, 2559)

สรุปผล

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาหลาสีขาวสามารถทำได้โดยการนำส่วนยอด (ขนาด 0.5 ซม จากกลุ่มยอดรวมที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง) มาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA เข้มข้น 3 มก/ล สามารถชักนำยอดรวมได้สูงสุด 100% จำนวน 6.50 ยอดต่อยอดที่เพาะเลี้ยง เมื่อตัดแยกยอดเดี่ยว ๆ มาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต IBA เข้มข้น 3 มก/ล สามารถชักนำรากได้สูงสุด 93.33% จำนวนราก 2.50 ราก และความยาวราก 3.96 ซม

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏยะลาที่ให้ทุนสนับสนุนการทำวิจัยประจำปีงบประมาณ 2559 และขอขอบคุณ ศาสตราจารย์ ดร. สมปอง เตชะโต อาจารย์ประจำภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ที่ให้ความรู้และคำแนะนำในการทำวิจัยและการเขียนบทความ

เอกสารอ้างอิง

ชะลอ ดวงดารา. 2542. ไม้ดอกประเภทหัว. จันทบุรี: คณะเกษตรและอุตสาหกรรม สถาบันราชภัฏรำไพพรรณี.

ปริญา สุคนธรัตน์, ทัศนี ขาวเนียม และสมปอง เตชะโต. 2559. การขยายพันธุ์ขมิ้นชันโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากหน่องอกนอกหลอดทดลอง. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 3:1-5.

รังสฤษฎ์ กาวีต๊ะ. 2540. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หลักการ และเทคนิค. กรุงเทพ ฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมพร ประเสริฐส่งสกุล. 2558. การขยายพันธุ์ดาหลาในหลอดทดลอง. วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา 10:21-28.

อรุณี ม่วงแก้วงาม. 2557. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาหลา. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 1: 10-13.

Abdelmageed, A. H. A., Faridah, Q. F., Nur Amlina, A. and Yaacob, M. 2011. The influence of organ and post-harvest drying period on yield and chemical composition of the essential oils of *Etlingera elatior* (Zingiberaceae). Journal of Medicinal Research 5: 3432-3439.

Faridah, Q. F., Abdelmageed, A. H. A, Julia, A. A. and Nor Hafizah, R. 2011. Efficient *in vitro* regeneration of *Zingiber zerumbet* Smith (a valuable medicinal plant) plantlets from rhizome bud explants. African Journal of Biotechnology 46: 9303-9308.

Lekawatana, S. and Pituck, O. 1998. New floricultural crops in Thailand. Acta Horticulturae 454: 59- 64.

Mahamad, F. Y., Maheran, A. A., Mihdzar, A. K. and Azmi, A. R. 2012. *In vitro* propagation of *Etlingera elatior* (Jack.). Scientia Horticulturae 135: 145-150.

Figure 1 Multiple shoot formation from cultured shoot of white torch ginger on MS medium supplemented with 3 mg/L BA after 8 weeks of culture.

Figure 2 Root formation from cultured shoots of white torch ginger on MS medium supplemented with 3 mg/L IBA after 8 weeks of culture.

Table 1 Effect of various concentrations of BA on percentage of multiple shoot induction and number of shoots per cultured shoot of *E. elatior* on MS medium after 8 weeks of culture.

Concentrations of BA (mg/L)	Percentage of multiple shoot	Shoot numbers/cultured shoot
1	98.25	2.25[c]
2	97.62	2.50[c]
3	100	6.50[a]
4	98.50	4.75[b]
5	98.56	2.75[c]
F-test	ns	*
CV.(%)	9.57	6.50

ns : not significant difference

* : significant difference at P≤ 0.05

Means values followed by the same letter within each column are not significantly different at P≤ 0.05, according to DMRT.

Table 2 Effect of various concentrations of IBA on percentage of root induction, number of roots per explant and root length of *E. elatior* on MS medium after 8 weeks of culture.

Concentrations of IBA (mg/L)	Percentage of root induction	Root numbers/shoot	Root length (cm)
0	20.25[d]	1.00[b]	1.02[c]
1	51.50[c]	1.75[b]	0.75[c]
2	53.75[c]	2.25[a]	1.05[c]
3	93.33[a]	2.50[a]	3.96[a]
4	65.50[b]	2.50[a]	2.05[b]
5	60.25[b]	2.00[a]	2.25[b]
F-test	*	*	*
CV.(%)	9.57	7.50	10.25

ns : not significant difference

* : significant difference at P≤ 0.05

Means values followed by the same letter within each column are not significantly different at P≤ 0.05, according to DMRT.