การชักนำให้เกิดต้นพอลิพลอยด์ (Polyploidy) ของขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) ในสภาพปลอดเชื้อ

กรณ์ กรภัทร์ชัยกุล

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากมหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี

2558

การชักนำให้เกิดต้นพอลิพลอยด์ (Polyploidy) ของขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) ในสภาพปลอดเชื้อ

กรณ์ กรภัทร์ชัยกุล

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากมหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี

2558

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี เพราะได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี ปีงบประมาณ 2555 และขอขอบคุณกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิที่กรุณาชี้แนะและให้คำแนะนำตรวจแก้ ตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่อย่างดี

ขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัย นายศักดิ์ชัย กรรมารางกูร และ นางจีรนันท์ กล่อมนรา แก้วรักษา ที่ให้ความร่วมมือดำเนินงานวิจัยตามแผนงานโครงการมาอย่างต่อเนื่องจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

ขอขอบคุณ ดร.พัชรี หลุ่งหม่าน ที่อนุเคราะห์เหง้าขมิ้นชันจากอำเภอบ้านตาขุน รวมถึงขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ประจำสาขาชีววิทยาที่เอื้อต่อการทำงานวิจัยจนทำให้งานวิจัยนี้เป็นไปด้วยความเรียบร้อย

อนึ่ง ผู้วิจัยหวังว่า งานวิจัยฉบับนี้จะมีประโยชน์อยู่ไม่น้อย จึงขอมอบส่วนดีทั้งหมดนี้ให้แก่เหล่าคณาจารย์ ที่ได้ประสิทธิประสาทวิชาจนทำให้ผลงานวิจัยเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่เกี่ยวข้อง และขอมอบความกตัญญูกตเวทิตาคุณ แด่บิดา มารดา และผู้มีพระคุณทุกท่าน สาหรับข้อบกพร่องต่าง ๆ ที่อาจจะเกิดขึ้นนั้น ผู้วิจัยขอน้อมรับผิดชอบเพียงผู้เดียว และยินดีที่จะรับฟังคำแนะนำจากทุกท่าน เพื่อเป็นประโยชน์ในการพัฒนางานวิจัยต่อไป

กรณ์ กรภัทร์ชัยกุล

กุมภาพันธุ์ 2558

หัวข้อวิจัย การชักนำให้เกิดต้นพอลิพลอยด์ (Polyploidy)
ของขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) ในสภาพปลอดเชื้อ

ผู้ดำเนินการวิจัย 1. นายกรณ์ กรภัทร์ชัยกุล
2. นายศักดิ์ชัย กรรมารางกูร
3. นางจีรนันท์ กล่อมนรา แก้วรักษา

ที่ปรึกษา -

หน่วยงาน สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชสุราษฎร์ธานี

ปีการศึกษา 2557

บทคัดย่อ

ชักนำให้เกิดหน่อจากปลายยอดของขมิ้นชันที่เก็บตัวอย่างมาจากอำเภอบ้านตาขุนและอำเภอท่าชนะโดยเพาะเลี้ยงปลายยอดจากเหง้าบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่มี BAP 1.0 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วตัดเฉพาะปลายยอดไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BAP พบว่าอาหารที่เติม BAP 3.5 มก./ล. ทำให้ขมิ้นชันจากอำเภอบ้านตาขุน และอำเภอท่าชนะเกิดหน่อเฉลี่ยสูงสุด (4.58 และ 4.21 หน่อ ตามลำดับ) หน่อที่เกิดขึ้นสามารถเกิดรากได้เองในอาหารที่มี BAP หรือ NAA ต้นขมิ้นชันที่เกิดขึ้นสามารถย้ายปลูกได้สำเร็จ สำหรับแคลลัสขนาดใหญ่โตเร็วสามารถชักนำได้จากตาขมิ้นชันที่ได้จากหน่อในแปลงที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D แต่ไม่สามารถชักนำให้เกิดต้นได้ อย่างไรก็ตาม แคลลัสจะเกิดขึ้นหลายแบบบนอาหารที่เติม NAA ร่วมกับ BAP และเมื่อย้ายแคลลัสสีน้ำตาลอ่อนเนื้อแน่นไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MMS ที่เติม BAP ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นต่ำๆ จะพัฒนาไปเป็นต้นจำนวนมาก ต้นที่เกิดขึ้นเกิดรากได้เองและย้ายปลูกลงดินได้สำเร็จ การชักนำพอลิพลอยด์โดยใช้ออริซาลินผ่านแคลลัสไม่ประสบผลสำเร็จ แต่สามารถชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์ได้จากกลุ่มตา โดยการตรวจวินิจฉัยเปรียบเทียบขนาดเซลล์คุมและจำนวนปากใบต่อพื้นที่ที่เท่ากัน พบว่าต้นพอลิพลอยด์จะมีขนาดเซลล์คุมใหญ่กว่าต้นดิพลอยด์อย่างชัดเจน ต้นพอลิพลอยด์สามารถย้ายไปอนุบาลและปลูกลงดินได้สำเร็จ

Research Title *In vitro* polyploidy induction in Turmeric (*Curcuma longa* L.)

Researcher 1. Mr. Korn Koarapatchaikol

2. Mr. Sukchai Kanmarangol

3. Mrs. Jeranun Klomnara Keawragsa

Research Consultants -

Organization Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Suratthani Rajabhat University

Academic Year 2014

ABSTRACT

In vitro multiple shoots induction in turmeric collected from Bantakhun and Thachana district, shoot-tip cultures were performed. The shoot tips derived from rhizomes were cultured on MS (Murashige and Skoog, 1962) medium containing 1.0 mg/l BAP for 4 weeks and shoot tips were dissected again then cultured on modified MS media. It was showed that BAP at a concentration of 3.5 mg/l provoked maximum shoot bud numbers production (BAN 4.58 and THA 4.21 shoots). The buds were rooted spontaneously in the induction medium. Transplantation was easily successful in potted soils. The rapid growth of large callus mass was obtained on the medium containing 2, 4-D, but no plantlets were regeneration after being subculture on regeneration medium. However, several calluses types were achieved on the MS medium containing NAA or NAA plus BAP. Transferring the pale brown callus to MMS medium containing BAP or BAP plus NAA, development of numerous shoots were observed. Plants were spontaneously rooted and transplanted successfully in potted soils. No plantlets were regenerated *via* pale brown callus after being subject to 3.0 mg/l oryzalin. Polyploidy induction was successful induction through *in vitro* shoot-bud clusters. Both diploidy and polyploidy were founded when investigated under compound microscope by comparison of guard cell size and polyploidy displayed the larger guard cell size than diploidy. Some polyploidy were rooted and then thriving acclimatization and transplantation in pot soils.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	(1)
บทคัดย่อภาษาไทย	(2)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(3)
สารบัญ	(4)
สารบัญตาราง	(7)
สารบัญภาพ	(8)
สัญลักษณ์และคำย่อ	(9)
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ประวัติความเป็นมา แหล่งกระจายพันธุ์ และสภาพแวดล้อม	1
1.2 ความสำคัญและปัญหา	1
1.3 วัตถุประสงค์	3
1.4 สมมติฐานการวิจัย	3
1.5 ขอบเขตการวิจัย	3
บทที่ 2 แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 พฤกษศาสตร์และการจัดจำแนก	4
2.2 พันธุศาสตร์ของขมิ้นชัน	5
2.3 การกระจายพันธุ์และการปลูก	6
2.4 ความสำคัญและประโยชน์	7
2.5 การขยายพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์	9
2.6 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	10
2.7 การปรับปรุงพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ	13
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 การเตรียมวัสดุและอุปกรณ์สำหรับทดลอง	16
3.2 การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยง	17
3.3 การเตรียมสารเคมีที่ใช้ฟอกฆ่าเชื้อ	17

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.4 การเตรียมสารอื่นๆ 17
3.5. การเตรียมชิ้นส่วนพืช (Explants) สำหรับเพาะเลี้ยง 17
3.6 การศึกษาการเกิดหน่อจากเหง้าขมิ้นชัน 18
3.7 การศึกษาการสร้างแคลลัสของขมิ้นชัน 19
3.8 การชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัส 19
3.9 การชักนำราก (Root induction) 20
3.10 การอนุบาลและการย้ายปลูกลงดิน 20
3.11 การศึกษาการเกิดพอลิพลอยด์ (Polyploidy) 21
3.12 การเก็บและวิเคราะห์ข้อมูล 21

บทที่ 4 ผลการวิจัย

4.1 การศึกษาการสร้างหน่อของขมิ้นชัน 23
4.2 การศึกษาการสร้างแคลลัสของขมิ้นชัน 26
4.3 การชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัส 31
4.4 การชักนำราก (Root induction) 33
4.5 การอนุบาลและการย้ายปลูกลงดิน 35
4.6 การชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์ 35
4.7 การคัดเลือกต้นพอลิพลอยด์ 37

บทที่ 5 อภิปรายผลและสรุปผล

5.1 การศึกษาการสร้างหน่อของขมิ้นชัน 41
5.2 การศึกษาการสร้างแคลลัสของขมิ้นชัน 43
5.3 การชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัส 44
5.4 การชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์ 45
5.5 การชักนำราก (Root induction) 47
5.6 สรุปผล 47
5.7 ข้อเสนอแนะ 48

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

เอกสารอ้างอิง 50

ภาคผนวก 60

ภาคผนวก 1 61

ภาคผนวก 2 63

เกี่ยวกับผู้เขียน 65

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	แผนการทดลองการฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์	18
4.1	อัตราการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ของตาขมิ้นชันจากอำเภอบ้านตาขุนและจากอำเภอท่าชนะที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร สูตร MS ที่เติม BAP 1.0 มก./ล.	24
4.2	การเกิดหน่อของขมิ้นชันที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้นต่างๆ	25
4.3	ร้อยละการตอบสนองของชิ้นส่วนต้นกล้าท่อนที่ 1 จากต้นกล้าขมิ้นชันทั้งสองแหล่งที่นำลงเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์ บนอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่างๆ	27
4.4	การตอบสนองของชิ้นส่วนต้นกล้าท่อนที่ 2 จากต้นกล้าขมิ้นชันจากทั้งสองแหล่งที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS โดยเติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่างๆ	29
4.5	ผลของ NAA ร่วมกับ BAP ความเข้มข้นต่างๆ ต่อตายอดจากหน่ออ่อนของขมิ้นชัน จากอำเภอบ้านตาขุนและท่าชนะ	30
4.6	ผลของ NAA ร่วมกับ BAP ความเข้มข้นต่างๆ ในการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสของขมิ้นชันจากอำเภอบ้านตาขุนและท่าชนะ	31
4.7	ผลของ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเกิดรากของหน่อขมิ้นชันจากอำเภอบ้านตาขุนและท่าชนะ	34
4.8	การตอบสนองของตาขมิ้นชันที่ผ่านการแช่ในออริซาลินความเข้มข้น 3.0 มก./ล. เป็นเวลาแตกต่างกัน ก่อนย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BAP 3.0 มก./ล. และ NAA 0.1 มก./ล.	36
4.9	ผลการศึกษาจำนวนปากใบด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า เพื่อวินิจฉัยระดับชุดโครโมโซมของต้นขมิ้นชันที่ผ่านการแช่ในออริซาลิน	40

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของขมิ้นชัน	4
4.1	ตาที่พัฒนาเป็นหน่อของขมิ้นชันที่มีความยาวน้อยกว่า 2 ซม. และ ยาวมากกว่า 2 ซม.	24
4.2	ลักษณะการเกิดหน่อของขมิ้นชันจากอำเภอบ้านตาขุนในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BAP ความเข้มข้นแตกต่างกัน	26
4.3	ลักษณะการตอบสนองของตาจากเหง้าขมิ้นชันที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นแตกต่างกัน	27
4.4	การตอบสนองของชิ้นส่วนต้นกล้าท่อนที่1 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2, 4-D ความเข้มข้น 1.5 มก./ล.	28
4.5	ลักษณะการตอบสนองของชิ้นส่วนท่อนที่ 2	29
4.6	การพัฒนาของต้นขมิ้นชันจากแคลลัส	32
4.7	ตัวอย่างรากของขมิ้นชันที่มีรากฝอยจำนวนมากและมีทิศทางเจริญเข้าหาแรงโน้มถ่วงของโลกเมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติมผงถ่าน 100 มก./ล.	34
4.8	ตัวอย่างต้นขมิ้นชันพันธุ์ท่าชนะที่ได้จากการเพาะเลี้ยงตาจากเหง้าหลังจากย้ายปลูกในดิน	35
4.9	ลักษณะการตอบสนองของตาขมิ้นชันที่แช่ในอาหารเหลวสูตร MS ที่มีออริซาลิน 3.0 มก./ล. ในระยะเวลาแตกต่างกัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA 3.5 มก./ล.	37
4.10	ลักษณะของต้นขมิ้นชันที่ได้จากการเพาะเลี้ยง	38
4.11	เปรียบเทียบขนาดเซลล์ผิวใบและเซลล์คุมของขมิ้นชันจากบ้านตาขุนชุดควบคุม และ พอลิพลอยด์ และ จากท่าชนะชุดควบคุม และ พอลิพลอยด์	39

สัญลักษณ์และคำย่อ

ซม.	=	เซนติเมตร
มม.	=	มิลลิเมตร
มก./ล.	=	มิลลิกรัมต่อลิตร
MS	=	Murashige and Skoog (1962)
BAP	=	6-Benzyl amino purine
NAA	=	Naphthalene acetic acid
2, 4-D	=	2, 4-Dichlorophenoxy acetic acid
บ้านตาขุน	=	ขมิ้นชันจากอำเภอบ้านตาขุน
ท่าชนะ	=	ขมิ้นชันจากอำเภอท่าชนะ
NaOCl	=	Sodium hypochlorite

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ประวัติความเป็นมา แหล่งกระจายพันธุ์ และสภาพแวดล้อม

ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L. จัดอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae สกุลกระเจียว (Curcuma) พืชสกุลนี้มีไม่น้อยกว่า 100 ชนิด มีถิ่นกำเนิดในประเทศแถบเอเชียใต้และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ คาดว่ามีถิ่นกำเนิดในประเทศไทยไม่น้อยกว่า 50 ชนิด มีการปลูกกันมากในประเทศอินเดีย จีน หมู่เกาะอินเดียตะวันออกและตะวันตก (บัญญัติ, 2538)ในอดีตคนไทยปลูกขมิ้นชันเป็นพืชแซมสำหรับบริโภคและเสริมรายได้โดยปลูกแซมในพืชหลัก ในปี 2532-2541 มีสถิติการส่งออก 24-80 ตัน/ปี มูลค่าการส่งออกประมาณ 2-4 ล้านบาท หลังจากนั้นความต้องการบริโภคขมิ้นชันทั้งในและต่างประเทศเพิ่มขึ้นทุกปี จนกระทั่งปัจจุบันประเทศไทยมีพื้นการผลิตขมิ้นชันขยายออกไปในภาคต่างๆ แหล่งใหญ่อยู่ในจังหวัดสระแก้ว ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา กาญจนบุรี นครปฐม นครราชสีมา สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช พัทลุง และพังงา รวมพื้นที่ปลูก ประมาณ 5,400 ไร่ ได้ผลผลิตต่อปีมากกว่า 9,800 ตัน มีมูลค่าการตลาดโดยรวมอยู่ที่ 90-100 ล้านบาทต่อปี ประมาณร้อยละ 98 ใช้ภายในประเทศ ส่วนอีกร้อยละ 2 ส่งออกไปยังสหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น อังกฤษ และประเทศกลุ่มตะวันออกกลาง เช่น ซาอุดีอาระเบีย และอิหร่าน เป็นต้น คู่แข่งการผลิตขมิ้นชันสำคัญ ได้แก่ อินเดีย พม่า และอินโดนีเซีย (ชูลีรัตน์ และ อนุวัต, 2547)

1.2 ความสำคัญและปัญหา

อินเดียเป็นประเทศที่ส่งออกและผลิตขมิ้นชันได้มากที่สุดในโลก จึงเป็นประเทศคู่แข่งสำคัญที่สุดของไทย เพราะขมิ้นชันที่ผลิตจากอินเดียมีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางเภสัชกรรมสูงกว่าของไทย ทำให้ราคาขมิ้นชันของอินเดียสูงกว่าของไทยประมาณร้อยละ 15 โดยมีสาเหตุสำคัญเพราะอินเดียมีการปรับปรุงและคัดเลือกพันธุ์ที่ดีสำหรับปลูกอย่างต่อเนื่อง ส่วนประเทศไทยยังมีการศึกษาวิจัยทั้งการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์น้อยมาก ส่วนใหญ่พบว่าเป็นรายงานวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเท่านั้น

ถึงแม้มูลค่าการส่งออกขมิ้นชันของไทยจะไม่มากนัก แต่การบริโภคภายในประเทศเพิ่มขึ้นทุกปี โดยเฉพาะใช้บริโภคเป็นอาหารแล้ว การใช้ในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์สมุนไพรและความงามมีความต้องการสูงขึ้นทุกปี ดังนั้นไทยจึงจำเป็นต้องเร่งปรับปรุงและคัดเลือกพันธุ์ขมิ้นชันให้มีคุณภาพมาตรฐานเพื่อประโยชน์ทางการค้า ในอนาคตเมื่อเกิดเขตการค้าเสรีในกลุ่มประเทศ

อาเซียน (ASEAN) จะมีการจัดทำข้อตกลงมาตรฐานขมิ้นชันขึ้น การที่ไทยยังไม่มีเกณฑ์มาตรฐานขมิ้นชันที่เป็นมาตรฐานของประเทศ และยังขาดการรับรองมาตรฐานพันธุ์และผลิตภัณฑ์ จึงทำให้การขยายตลาดทำได้ยาก และจะเป็นปัญหากับเกษตรกรไทยในอนาคต ซึ่งปัญหาที่เกิดขึ้นมาจากปัญหาพื้นฐานของผลผลิตและคุณภาพของพันธุ์นั่นเอง

ดังนั้นนักวิชาการและเกษตรกรจึงต้องเร่งพัฒนาประสิทธิภาพการผลิตขมิ้นชันให้ได้ผลผลิตต่อไร่ให้เพิ่มสูงขึ้น และมีคุณภาพได้มาตรฐาน โดยมีปริมาณสารออกฤทธิ์สูง ซึ่งจะเป็นที่ต้องการของตลาดและอุตสาหกรรมต่อเนื่อง เช่น โรงงานแปรรูปสารสกัดขมิ้นชัน ทั้งยังต้องปรับลดต้นทุนการผลิตให้ต่ำลง เพื่อให้ขมิ้นชันของไทยสามารถแข่งขันได้ โดยเฉพาะการเปิดตลาดเสรีนำเข้าสินค้าเกษตรภายใต้กรอบ เออีซี (AEC) คาดว่าจะมีสินค้าขมิ้นชันจากประเทศสมาชิกอาเซียน เช่น พม่า และอินโดนีเซีย ทะลักเข้ามาตีตลาดภายในประเทศเพิ่มมากขึ้น

อันที่จริงแล้วประเทศไทยมีสภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของขมิ้นชัน การปรับปรุงและคัดเลือกพันธุ์ที่ดีจะทำให้ผลผลิตขมิ้นชันของไทยมีคุณภาพและคุณสมบัติที่ดี ซึ่งสามารถพัฒนาเข้าสู่อุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ได้หลากหลายประเภท ทั้งระดับชาติและนานาชาติ อาทิเช่น กลุ่มอาหารเสริมสุขภาพ เครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์สปา ลูกประคบ ยาทากันยุง ส่วนผสมในอาหารสัตว์และผลิตภัณฑ์สำหรับสัตว์เลี้ยง รวมถึงผลิตภัณฑ์ป้องกันกำจัดศัตรูพืช การเปิดเสรีทางการค้าในกลุ่มอาเซียนจะเป็นการเพิ่มโอกาสในการขยายตลาดส่งออกขมิ้นชันของไทยเพิ่มมากขึ้น

การวิจัยพัฒนาคุณภาพขมิ้นชันมีทั้งในแง่ผลผลิตต่อไร่และคุณภาพของสารสีเหลืองคือ เคอร์คูมินอยด์ (Curcuminoid) ในเหง้า (Rhizome) และน้ำมันหอมระเหย (Volatile oil) ที่มีสีเหลืองอ่อน ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์สำคัญหลายชนิด เช่น ทูเมอร์โรน (Tumerone) ซิงจิเบอร์รีน (Zingiberene) บอร์นิออล (Borniole) เป็นต้น ซึ่งมีสรรพคุณเป็นยาสมุนไพรหลายอย่าง เช่น มีฤทธิ์ขับลมในลำไส้ (Rose and Brain, 1977) ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Misra and Sahu, 1977) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Zaeoung, *et al*. 2005; Sharm, 1976) รักษาโรคผิวหนัง ผื่นคัน ท้องอืด ท้องเฟ้อ และเป็นส่วนประกอบของอาหาร (รุ่งรัตน์, 2540)

แต่ในปัจจุบันขมิ้นชันของไทยมีผลผลิตต่อไร่และปริมาณเภสัชกรรมสารดังกล่าวปริมาณต่ำ เนื่องจากมีการศึกษาทางด้านนี้น้อยมากพบเฉพาะการศึกษาวิจัยด้านฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา จึงมีความจำเป็นต้องพัฒนาพันธุ์ให้สามารถแข่งขันกับขมิ้นชันของประเทศอื่นได้ การพัฒนาพันธุ์หรือปรับปรุงพันธุ์วิธีหนึ่งที่สามารถทำได้รวดเร็ว

การวิจัยนี้จึงเน้นไปที่การปรับปรุงพันธุ์โดยการเพิ่มจำนวนโครโมโซม ที่คาดว่าน่าจะทำให้มีขนาดของเหง้าโตขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้มีสารเคอร์คูมินและน้ำมันหอมระเหยเพิ่มขึ้น รวมทั้งอาจจะใช้เป็นต้นแม่พันธุ์ในแผนการปรับปรุงพันธุ์ขมิ้นชันได้อีกทางหนึ่งด้วย

1.3 วัตถุประสงค์

1.3.1 ศึกษาการเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์ของขมิ้นชันในสภาพปลอดเชื้อ

1.3.2 ชักนำให้ขมิ้นชันเกิดต้นพอลิพลอยด์โดยใช้สารออริซาลินในสภาพปลอดเชื้อ

1.3.3 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นปกติและต้นพอลิพลอยด์

1.4 สมมติฐานการวิจัย

1.4.1 BAP สามารถเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์ขมิ้นชันจำนวนมากได้

1.4.2 สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสและต้นได้

1.4.3 ออริซาลินสามารถชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์ในขมิ้นชันได้

1.5 ขอบเขตการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงปฏิบัติการ ดำเนินงานวิจัยที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี โดยใช้พืชทดลองเป็นขมิ้นชันจากอำเภอบ้านตาขุนที่มีเนื้อเหง้าสีส้ม และ อำเภอท่าชนะที่มีเนื้อเหง้าสีเหลือง

งานวิจัยเริ่มตั้งแต่การนำเหง้าแก่ (Mature rhizome) และหน่ออ่อน (Young bud) มาเพาะเลี้ยงให้เกิดหน่อใหม่จำนวนมากและชักนำให้เกิดแคลลัส แล้วคัดเลือกแคลลัสมาเลี้ยงในอาหารที่ทำให้พัฒนาเป็นต้นใหม่ได้ แล้วนำแคลลัสหรือหน่อที่เกิดขึ้นมาแช่ในสารละลายออริซาลินเพื่อชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์ รวมทั้งการศึกษาการเกิดราก การอนุบาลและการย้ายปลูกลงดิน

สำหรับการตรวจหาและการคัดเลือกต้นพอลิพลอยด์ใช้ 2 วิธีการคือ การเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยา การเปรียบเทียบเซลล์ผิวและเซลล์คุมทั้งขนาดและปริมาณต่อพื้นที่ที่เท่ากัน

บทที่ 2
แนวคิด ทฤษฎี เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 พฤกษศาสตร์และการจัดจำแนก

ขมิ้น (*Curcuma longa* L.) คนไทยรู้จักกันดีมาตั้งแต่สมัยโบราณว่า ขมิ้นชัน (ภาพที่ 2.1) เป็นพืชที่สามารถเจริญเติบโตได้กว้างขวางในภูมิภาคอากาศร้อนหรือร้อนชื้นทั่วโลก สำหรับในประเทศไทยมีชื่อเรียกแตกต่างกันตามท้องถิ่นหลายชื่อ เช่น ขมิ้น ขมิ้นแกง ขมิ้นหยวก ขมิ้นหัว (เชียงใหม่) และหมิ้น (ภาคใต้) จัดเป็นพืชล้มลุก (Herb) มีลำต้นใต้ดินเรียกว่า เหง้า (Rhizome) ทำหน้าที่สะสมอาหารและเภสัชกรรมสารหลายชนิด มีคุณสมบัติในการบรรเทาและรักษาโรคในมนุษย์และสัตว์ได้หลายชนิด (รัชฎาพร, 2550; Palve and Nayak, 2012) เนื้อในของเหง้ามีสีเหลืองจนถึงสีส้มขึ้นอยู่กับพันธุ์ มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว ใบออกเป็นรัศมีจากโคนต้น ซึ่งติดกับผิวดินรูปเรียวยาวปลายแหลมคล้ายใบหอกกว้าง ดอกออกเป็นช่อ ใบประดับมีสีเขียวอ่อนหรือสีขาว ส่วนปลายเป็นรูปหอกเรียงซ้อนกันในใบประดับ 1 ใบ มี 2 ดอก มีใบประดับสีขาวหรือเขียว รูปขอบขนานด้านนอกมีขน กลีบเลี้ยงเชื่อมติดกันเป็นรูปท่อ กลีบดอกสีขาวโคนเชื่อมติดกันเป็นท่อยาว ปลายแยกเป็นสามส่วน โดยมีกลีบหนึ่งซึ่งเป็นเกสรตัวผู้ที่พัฒนาไปคล้ายกลีบดอกมีขน อับเรณูอยู่ใกล้ๆ ปลายท่อเกสรตัวเมียที่อยู่ตรงส่วนปลายคล้ายรูปปากแตร รังไข่มี 3 ช่อง แต่ละช่องมีไข่อ่อน มีก้านช่อแทงจากเหง้าโดยตรง ออกตรงกลางระหว่างใบคู่ในสุด ดอกสีขาวมีแถบสีเหลือง เหง้ามีสีส้มหรือเหลืองขึ้นอยู่กับพันธุ์ (ธนภร, 2009; ภานุทรรศน์, 2544) ดังภาพที่ 2.1

ภาพที่ 2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของขมิ้นชัน, ลักษณะใบและต้น (1), ดอก (2) และ เหง้า (3)

นักวิทยาศาสตร์ได้จัดจำแนกชั้นของขมิ้นชัน ตามลำดับต่อไปนี้

อาณาจักร (Kingdom) Plantae

หมวด (Division) Magnoliophyta

ชั้น (Class) Liliopsida

อันดับ (Order) Zingiberales

วงศ์ (Family) Zingiberaceae

สกุล (Genus) Curcuma

ชนิด (Species) *Curcuma longa*

2.2 พันธุศาสตร์ของขมิ้นชัน

จากรายงานการวิจัยระดับเซลล์ที่ศึกษาจำนวนโครโมโซมของขมิ้นชัน พบว่าขมิ้นชันเป็นพืชที่มีโครโมโซม จำนวน 63 แท่ง (Nair and Sasikumar, 2009; Leong-Skornickova *et al*., 2007; Eksomtramage *et al*., 1996a) นอกจากนี้ยังพบว่ามีการแปรผันของจำนวนโครโมโซมในกลุ่มประชากร เช่น อาจจะมี 61 หรือ 62 หรือ 64 โครโมโซม (Leong-Skornickova *et al*., 2007) ซึ่งยังไม่ทราบสาเหตุของความแปรปรวนของจำนวนโครโมโซมที่เกิดขึ้นอย่างแน่ชัด โดยปกติพบว่าขมิ้นชันมีดอกแต่มีเมล็ดน้อย สาเหตุน่าจะมาจากขมิ้นชันมีโครโมโซม 3 ชุด (Triploid หรือ 2n = 3x = 63 (อรพินท์, 2543) ทำให้เป็นหมัน แต่จากการสังเกตช่อดอกของตัวอย่างขมิ้นชันที่เก็บรวบรวมจำนวน 129 ตัวอย่างไม่พบตัวอย่างใดเลยที่มีการติดเมล็ด (นันทวรรณ, 2549) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่า ขมิ้นชันสามารถขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด แต่พบได้น้อยเนื่องจากมีการติดเมล็ดยาก (กรมวิชาการเกษตร, 2544) การขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดนั้นจะทำให้เกิดความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง (Shamina *et al*., 1998) ด้วยเหตุนี้นักวิจัยจึงพยายามหาช่องทางแก้ปัญหาเพื่อให้สามารถปรับปรุงพันธุ์ขมิ้นชันด้วยวิธีการต่างๆ ได้ เช่น การเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมให้มากขึ้นเพื่อแก้ปัญหาการเป็นหมันในกระบวนการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ เทคนิคหนึ่งที่ใช้ได้ผลดีคือการใช้สารเพิ่มชุดโครโมโซมของเซลล์เนื้อเยื่อเจริญ แล้วชักนำให้พัฒนาเป็นต้นใหม่ แล้วสามารถใช้เป็นต้นแม่พันธุ์สำหรับกระบวนการปรับปรุงพันธุ์ผ่านการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศได้ต่อไป (บุญหงษ์ และคณะ, 2552)

เนื่องจากในประเทศไทยมีขมิ้นชันหลายพันธุ์มาก ในอดีตไม่มีใครสนใจปรับปรุงพันธุ์ขมิ้นชันเพราะปลูกเพื่อใช้ในครัวเรือนเท่านั้น แต่ปัจจุบันมีการนำมาใช้ด้านดูแลสุขภาพอย่าง

กว้างขวาง นักวิจัยไทยจึงให้ความสนใจมากขึ้นสังเกตได้จากมีการวิเคราะห์เปรียบเทียบขมิ้นชันที่รวบรวมจากทั่วประเทศกว่า 2,000 ตัวอย่าง โดยใช้เทคนิคถอดรหัสดีเอ็นเอด้วยเทคโนโลยีการใช้เครื่องหมาย ดีเอ็นเอ ชนิด Microstellite marker สามารถจำแนกพันธุ์ได้จำนวน 34 พันธุ์ ซึ่งในจำนวนนี้มีขมิ้นชันที่มีลักษณะดี 14 พันธุ์ พันธุ์ที่ดีที่สุดนั้นให้ผลผลิตประมาณ 6.2 ตัน/ไร่ และมีปริมาณสารเคอร์คูมิน ประมาณ ร้อยละ 12 (รัชฎาพร, 2550; นันทวรรณ, 2549)

2.3 การกระจายพันธุ์และการปลูก

ขมิ้นชันเป็นพืชพื้นบ้านพบได้ทั่วทุกภาคของประเทศไทย แต่เนื่องจากขมิ้นชันเป็นพืชที่ทนทานต่อสภาพแวดล้อมได้ดี จึงพบกระจายพันธุ์ปลูกอยู่ในเขตร้อนถึงเขตอบอุ่น ได้แก่ ประเทศอินเดีย อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ จาไมกา และเปรู อย่างไรก็ตาม แหล่งเจริญเติบโตของขมิ้นชันที่ดีที่สุดอยู่ในเขตร้อนชื้นเพราะชอบพื้นที่ทีมีความชุ่มชื้นสูงและมีร่มเงาจากพืชอื่น ไม่ชอบขึ้นที่โล่งแจ้งและปริมาณน้ำฝนน้อย ช่วงเวลาปลูกเหมาะสมที่สุดคือต้นฤดูฝน กล่าวคือในเดือนพฤษภาคม ในแปลงปลูกต้องมีการเขตกรรมกำจัดวัชพืชให้หมด ใส่ปุ๋ย 2-3 ตันต่อไร่ หลังจากนั้นตัดเหง้าที่จะทำเป็นต้นพันธุ์เป็นชิ้นเล็ก ๆ ให้มีตาติดอยู่ 2-3 ตา หลังจากปลูก1-2 สัปดาห์ รดน้ำให้ชุ่มตลอด หลังจากนั้นไม่นานจะงอกหน่อโผล่ขึ้นมาจากใต้ดิน การให้น้ำอาจจะกระทำอย่างต่อเนื่องถ้าปลูกในพื้นที่ที่ฝนไม่ค่อยตก ระยะเวลาปลูกจนกระทั่งเก็บเกี่ยวผลผลิตประมาณ 11-12 เดือน สังเกตได้จากใบที่เปลี่ยนเป็นสีเหลืองและแห้งนั่นแสดงว่าหัวแก่เต็มที่จะให้ผลผลิตที่ดีมีคุณภาพและปริมาณมากที่สุด ถ้าไม่เก็บเกี่ยวผลผลิตเหง้าของขมิ้นชันสามารถคงอยู่ในดินต่อไปได้อีก 9-10 เดือน แต่หลังจากนั้นเหง้าหลักจะเน่าเหลือเฉพาะเหง้าย่อย เมื่อมีฝนตกอาจจะงอกหน่อใหม่ขึ้นมาเป็นกลุ่มและจะทำให้คุณภาพของเหง้าลดลงเรื่อยๆ

ศูนย์วิจัยพืชสวนตรังทดลองปลูกเปรียบเทียบผลผลิตของขมิ้นชัน 2 ชนิด คือ ขมิ้นชันจากพังงา และขมิ้นชันจากสุราษฎร์ธานี โดยเก็บเกี่ยวผลผลิตเมื่อขมิ้นชันอายุ 6, 8, 10 , 12, 14, 16, 18, 20, 22 และ 24 เดือนหลังปลูก นำไปวิเคราะห์สารเคอร์คูมิน และน้ำมันหอมระเหย พบว่าขมิ้นชันทั้ง 2 พันธุ์ ดังกล่าวมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกัน ขมิ้นชันพันธุ์พังงาเก็บเกี่ยวผลผลิตที่อายุ 16 เดือนหลังปลูกให้เคอร์คูมินมากที่สุด (ร้อยละ 10.59) และส่วนน้ำมันหอยระเหยให้ปริมาณมากที่สุดเมื่อเก็บเกี่ยวที่อายุ 14 เดือน (ร้อยละ 9.54) ส่วนพันธุ์สุราษฎร์ธานีให้ผลผลิต เคอร์คูมิน และ น้ำมันหอมระเหยสูงสุด เมื่อเก็บเกี่ยวที่อายุ 14 เดือน ประมาณร้อยละ 12.41 และร้อยละ 8.88 ตามลำดับ ส่วนผลผลิตน้ำหนักสดของเหง้าพบว่า ทั้งสองพันธุ์ให้ผลผลิตมากที่สุดเมื่อเก็บเกี่ยวที่อายุ 18 เดือน (กรมวิชาการเกษตร, 2556)

จะเห็นว่าคุณภาพของเหง้าที่สะสมสารออกฤทธิ์สำคัญยังแตกต่างกันไปตามพันธุ์และระยะเวลาการเก็บเกี่ยวผลผลิต การคัดเลือกเหง้าขมิ้นชันที่มีคุณภาพดีคือ ต้องมีอายุอย่างน้อย 9-12 เดือนหลังปลูก จากการศึกษาเพิ่มเติมพบว่า เมื่อขุดเหง้าขึ้นมาแล้วต้องไม่เก็บไว้นานเกินไป ที่สำคัญต้องเก็บให้พ้นแสง เพราะแสงจะทำปฏิกิริยากับเคอร์คูมินและน้ำมันหอมระเหยหายไปหมด

2.4 ความสำคัญและประโยชน์

คนไทยทราบกันดีมาแต่โบราณว่าขมิ้นชันใช้ประโยชน์ได้หลากหลายแบบ เช่น ในการรักษาโรคเกี่ยวกับลำไส้และระบบทางเดินอาหาร รวมทั้งโรคเกี่ยวกับถุงน้ำดีผิดปกติ โรคตับ แผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก กระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ สามารถต่อต้านโรคมะเร็งบางชนิด โรคปอดและไซนัส โดยมีการใช้และปรากฏอยู่ในตำหรับยาแพทย์แผนไทยทั้งรักษาคนและรักษาสัตว์เลี้ยง รวมทั้งมีผลงานวิจัยทางการแพทย์และเภสัชกรรมแผนปัจจุบันจำนวนมากยืนยันผลการรักษาโรคดังกล่าวด้วยสารสกัดจากขมิ้นชัน (Palve and Nayak, 2012; Taylor and Leonard, 2011; Rasyid and Lelo, 1999; Srivastava *et al*., 1995)

2.4.1 คุณค่าทางอาหาร

คนไทยนิยมนำเหง้าขมิ้นชันมาประกอบผลิตภัณฑ์อาหารแทบทุกภาค รวมทั้งใช้แต่งรส กลิ่นและสีของอาหาร เช่น ใช้ทำข้าวหมกไก่ แกงเหลือง แกงไตปลา แกงกะหรี่ ไก่ทอดขมิ้น เป็นต้น ขมิ้นชันเป็นแหล่งสีธรรมชาติที่ให้ความปลอดภัยมากกว่าสีสังเคราะห์ นอกจากนี้ขมิ้นชันยังช่วยดับกลิ่นคาวได้ดีมาก โดยเฉพาะอาหารใต้นิยมผสมขมิ้นชันหลายสูตร (ภาณุทรรศน์, 2544)

เหง้าขมิ้นชันมีประโยชน์ในแง่โภชนาการสูง กล่าวคือ ประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate) ร้อยละ 70 โปรตีน (Protein) ร้อยละ 6.5 ไขมัน (Lipid) ร้อยละ 5.1 แร่ธาตุ (Mineral salt) ร้อยละ 3.5 เช่น วิตามินเอ วิตามินซี วิตามินอี เป็นต้น และอื่นๆ อีก ร้อยละ 15.7 (นิจศิริ, 2534)

2.4.2 คุณค่าด้านการแพทย์และเภสัชกรรม

ขมิ้นชันมีความสำคัญในฐานะที่เป็นพืชสมุนไพร มีผลในการบรรเทาและรักษาโรคได้หลายชนิด จึงมีคุณค่าด้านการแพทย์และเภสัชกรรม ด้านอุตสาหกรรมและพิษวิทยา เช่น ปรุงเป็นยารักษาโรค ทำเครื่องสำอาง (ธนภร, 2009) จากการศึกษาวิจัยที่ผ่านมาพบว่า ในเหง้าของขมิ้นชันมีน้ำมันหอมระเหยสีเหลือง ประกอบด้วย สารในกลุ่ม เซสควิเทอร์พีนคีโตน (Sesquiterpene ketone) ที่มีมากที่สุดคือ ทูมีโรน (Tumerone) นอกจากนี้ยังพบ เออาร์-ทูมีโรน (ar-Tumerone) แอลฟ่า-อแทนโทน (α-Athantone) ซิงจิเบอร์รีน (Zingiberene) และ บอร์นีออล (Borneol) ส่วนสารสีส้มมีชื่อว่า เคอร์คูมิน (Curcumin) ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ช่วยป้องกันโรคหลายชนิด เช่น ลดกรดใน

กระเพาะอาหาร ต้านมะเร็งปอด มะเร็งลำไส้ และมะเร็งต่อมลูกหมาก มีผลในการรักษาโรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) เป็นต้น (Palve and Nayak, 2012; Shamina *et al*., 1998)

เหง้าขมิ้นชันมีวิตามินเอ วิตามินซี และ วิตามินอี ที่เข้าสู่ร่างกายแล้วจะทำงานพร้อมกันมีผลทำให้ช่วยลดไขมันในตับ สมานแผลภายในกระเพาะอาหาร ช่วยย่อยอาหาร ทำความสะอาดลำไส้ เปลี่ยนไขมันให้เป็นกล้ามเนื้อ ต้านอนุมูลอิสระและป้องกันมะเร็งตับ สร้างภูมิคุ้มกันให้กับผิวหนัง กำจัดเชื้อราที่ปนเปื้อนในอาหารที่รับประทานเข้าไปและสะสมในร่างกายเตรียมก่อตัวเป็นเซลล์มะเร็ง ช่วยขับน้ำนมสำหรับสตรีหลังการคลอดบุตรได้ดี

สารเคอร์คูมินของขมิ้นชันมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อ แบคทีเรีย เชื้อรา ลดการอักเสบ และช่วยขับน้ำดี ส่วนน้ำมันหอมระเหยมีสรรพคุณบรรเทา อาการปวดท้อง ท้องอืดและแน่นจุดเสียด อาการแพ้อักเสบ แผลฝีพุพอง และแมลงสัตว์กัดต่อยภายนอก (ธนภร, 2009; ภานุทรรศน์, 2544) กองวิจัยและพัฒนาสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ได้ศึกษาพบว่าขมิ้นชันไม่มีพิษที่รุนแรง ทั้งในการใช้ระยะสั้นและระยะยาว นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมันหอมระเหยเป็นสารสำคัญที่ออกฤทธิ์รักษาอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ ผลการทดลองในโรงพยาบาลชุมชน 5 แห่ง และโรงพยาบาลทั่วไป 1 แห่ง สำหรับผู้ป่วยที่มีอาการต่าง ๆ ได้แก่ ปวดแสบท้องเวลาหิว จุกแน่นบริเวณลิ้นปี่ จุกเสียดท้อง เนื่องจากมีลมในกระเพาะอาหารและ ลำไส้ ผลปรากฏว่า ผู้ป่วยที่ได้รับขมิ้นชันมีอาการดีขึ้นและไม่พบอาการแทรกซ้อน จึงสรุปได้ว่า ขมิ้นชันมีประสิทธิภาพดีในการใช้จึงสมควรเผยแพร่และพัฒนาเป็นยา ปัจจุบันมีการพัฒนาเป็นขมิ้นชันแคปซูลทำให้รับประทานง่าย โดยมีการควบคุมโดยองค์การเภสัชกรรม มีกระบวนการผ่านการฆ่าเชื้อและบรรจุแผงอลูมิเนียมกันชื้น มีสรรพคุณบรรเทาอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ จุกเสียด แน่น และอาหารไม่ย่อยได้ดี

ในปัจจุบันมีการวิจัยคุณสมบัติทางเภสัชกรรมของสารที่พบในเหง้าขมิ้นชันมากขึ้น จึงค้นพบสรรพคุณใหม่ๆ ของขมิ้นชันอีกมากมาย เช่น การป้องกันการแข็งตัวของหลอดเลือด การชะลอความแก่ การเป็นสารต้านมะเร็งและเนื้องอกต่างๆ รายงานวิจัยบางส่วนพบว่า การกินอาหารผสมขมิ้นสามารถทำลายเชื้อไวรัสที่ผ่านมาทางระบบย่อยอาหารได้ รวมทั้งสามารถป้องกันมะเร็งจากสารก่อมะเร็งต่างๆ และยังมีสรรพคุณในการต้านไวรัส โดยเฉพาะเชื้อ HIV อันเป็นต้นเหตุของโรคเอดส์ ขมิ้นชันจึงเป็นอีกความหวังหนึ่งของผู้ป่วยเอดส์ คุณสมบัติในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันและลดปฏิกิริยาการแพ้ ของคนที่เป็นโรคภูมิแพ้และเป็นหวัดบ่อยๆ การกินอาหารใต้ที่ใส่ขมิ้นทุกวันจะช่วยให้ร่างกายแข็งแรงขึ้นได้ นอกจากนี้แล้วจากการทดลองใช้สารคูเคอร์มินร่วมกับยารักษามะเร็งในหนูทดลอง พบว่าสามารถป้องกันการลุกลามของมะเร็งได้ถึงร้อยละ 78 ส่งผลให้มีคนหันมาบริโภคขมิ้นชันทั้งในรูปของอาหาร และอาหารเสริมมากมาย เพราะไทยเป็นประเทศหนึ่งที่คุ้นเคย

กับขมิ้นชันและมักใช้เป็นเครื่องเทศเพื่อปรุงอาหารมาแต่โบราณ จึงมีความรู้สึกว่าการใช้ขมิ้นชันปลอดภัย

ในปัจจุบันมีการผลิตขมิ้นชันผงบรรจุในแคปซูลจำหน่ายตามร้านค้าและร้านขายยา เพราะองค์การเภสัชกรรมรับรองให้ขมิ้นชันเป็นยาอยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ และเป็นยาในงานสาธารณสุขมูลฐาน จึงสามารถที่จะเบิกค่ายาจากระบบประกันได้ และแคปซูลขมิ้นชันยังสามารถวางจำหน่ายได้ในร้านค้าทั่วไป ปัจจุบันจึงมีรายงานวิจัยเกี่ยวกับขมิ้นออกมาเรื่อยๆ อย่างต่อเนื่อง เพราะเห็นความสำคัญของพืชชนิดนี้ว่า ถ้าหากมีการศึกษาวิจัยขมิ้นชันอย่างจริงจังและนำมาผลมาผลิตขมิ้นชันในรูปแบบต่างๆ นอกจากจะทำให้คนไทยสุขภาพดีแล้วยังจะส่งเสริมในแง่เศรษฐกิจของคนไทยและประเทศไทยอีกด้วย

2.4.3 คุณค่าด้านเวชสำอาง

หลายประเทศนิยมใช้ขมิ้นชันเป็นเครื่องสำอาง ในแถบตอนใต้ของเอเชีย และแถบตะวันออกไกลใช้ขมิ้นชันทาผิวหน้าทำให้ผิวหน้านุ่มนวล คนมาเลเซียและคนไทยสมัยก่อนใช้ขมิ้นในการอาบน้ำ ทำให้ผิวผ่องยิ่งขึ้น การอาบน้ำด้วยขมิ้นจะนำขมิ้นหมักไว้ที่ผิวหนังสักพัก แล้วจึงขัดออกด้วยมะขามเปียก นอกจากทำให้ผิวหนังนุ่มนวลแล้ว ขมิ้นชันยังมีสรรพคุณในการป้องกันการงอกของขน ผู้หญิงอินเดียจึงใช้ทาผิวหนังเพื่อป้องกันไม่ให้ขนงอก คนพม่าเชื่อว่าถ้าใช้ขมิ้นผสมสมุนไพรที่ชื่อ TAKANA ทาผิวเด็กตั้งแต่ยังเล็กๆ จะทำให้เนื้อผิวละเอียด

ขมิ้นชันมีประโยชน์กับผิวพรรณมาก ทำให้เครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์ต่างๆ หลายยี่ห้อนำมาเป็นส่วนผสมใช้เพื่อดูแลผิว หนึ่งในคุณสมบัติของขมิ้นชันคือ รักษาสิว มีบทบาทในการต่อต้านการอักเสบและทำให้แผลและริ้วรอยหายเร็วขึ้น ไม่ใช่แค่ต่อต้านหรือลดการอักเสบเท่านั้น แต่ยังช่วยให้สีผิวกระจ่างขึ้นด้วยถ้าใช้เป็นประจำ สิวเกิดจากแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการอักเสบหรือบวมแดง มีงานวิจัยพบว่าผงขมิ้นชันสามารถหยุดยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ โดยผสมร่วมกับ Neem oil หรือ Tea tree oil เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพมากขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยปรับสภาพผิวเพื่อให้ผิวดูอ่อนเยาว์และช่วยให้แผลหายเร็วขึ้น ด้วยเหตุผลดังกล่าวทำให้อุตสาหกรรมเครื่องสำอางหลายยี่ห้อมีการผสมขมิ้นชันในเครื่องสำอางที่ขายตามท้องตลาดที่พบเห็นได้ทั่วไป

2.5 การขยายพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์

โดยปกติขมิ้นชันขยายพันธุ์ด้วยเหง้า ซึ่งเป็นลำต้นใต้ดิน ไม่นิยมขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด เนื่องจากขมิ้นชันผสมติดเมล็ดน้อยและทำให้มีการแปรปรวนของผลผลิตได้ แต่ในทางตรงกันข้ามพบว่าการที่ขมิ้นชันติดเมล็ดน้อยก็ส่งผลเสียต่อระบบการปรับปรุงพันธุ์ขมิ้นชันเป็นอย่างมาก เพราะทำให้เกิดอุปสรรคในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์ที่ต้องอาศัยการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ ดังนั้นจึงมี

ขมิ้นชันพันธุ์ใหม่เกิดขึ้นน้อยมาก เพิ่งจะมีรายงานผลการวิจัยของศูนย์วิจัยพืชสวนตรัง จังหวัดตรัง ที่สามารถปรับปรุงพัฒนาพันธุ์ขมิ้นชันจนได้พันธุ์ “ตรัง 2” สำเร็จ พบว่ามีผลผลิตสูงขึ้นจากพันธุ์เดิมแสดงให้เห็นว่า การปรับปรุงพันธุ์ขมิ้นชันด้วยวิธีต่างๆ ยังมีความจำเป็นและทำให้ผลผลิตสูงขึ้นได้ (กรมวิชาการเกษตร, 2556)

การปรับปรุงพันธุ์พืชสามารถทำได้หลายวิธี ยิ่งในปัจจุบันนี้ด้วยแล้วมีเทคโนโลยีใหม่ๆ ก่อให้เกิดสายพันธุ์พืชใหม่ๆ มากมาย วิธีที่น่าสนใจวิธีหนึ่งคือการทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับโครโมโซม เช่น ทำให้เกิดการเพิ่มชุดโครโมโซมมากว่าปกติหรือเกิดพอลิพลอยด์ (Polyploidy) วิธีนี้ทำให้ได้ต้นลูกที่มีลักษณะที่ดีขึ้นได้ โดยขั้นตอนต่างๆ ดำเนินการภายใต้สภาพปลอดเชื้อ (*In vitro*) ร่วมกับเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่จะอำนวยความสะดวกให้กระบวนการชักนำการเพิ่มชุดโครโมโซมด้วยสารเคมีบางชนิด เช่น Oryzalin หรือ Colchicine สำเร็จง่ายขึ้น เซลล์หรือกลุ่มเนื้อเยื่อเจริญที่เพิ่มชุดโครโมโซม จะผ่านกระบวนการเพาะเลี้ยงและชักนำให้พัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ต่อไปได้โดยอาศัยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออย่างมีระบบ ด้วยวิธีนี้ทำให้สามารถใช้ส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ราก ใบ ปลายยอด แคลลัสและเซลล์ มาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ได้ ความเสี่ยงที่จะเกิดต้นพืชชนิด Mixoploid หรือ Chimera ต่ำกว่าวิธีปกติมาก อีกทั้งมีกลุ่มประชากรที่เกิดขึ้นจากวิธีนี้จำนวนมาก โอกาสที่จะคัดเลือกได้ต้นพืชที่มีลักษณะตามต้องการจึงเป็นไปได้สูง รวมไปถึงสามารถเพิ่มจำนวนต้นที่มีลักษณะดีตามต้องการให้มากขึ้นแบบทวีคูณในเวลาอันรวดเร็ว โอกาสที่ต้นพืชที่มีลักษณะดีจะตายหรือสูญหายไปก็มีน้อยอีกด้วย ซึ่งวิธีการที่กล่าวมานี้ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางทางเกษตรกรรมและเทคโนโลยีการผลิตพืชในต่างประเทศ

2.6 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นเครื่องมือสำคัญที่ได้รับความนิยม และเป็นส่วนหนึ่งของวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพในการขยายพันธุ์พืชในสภาพปลอดเชื้อ ทำให้พืชปลอดโรคและได้ปริมาณมากในเวลาอันรวดเร็ว การชักนำให้เกิด Somatic embryogenesis หรือ Somatic organogenesis ภายใต้สภาพปลอดเชื้อ จึงเป็นวิธีการที่มีศักยภาพและทางเลือกสำคัญสำหรับการขยายพันธุ์พืชและการชักนำการก่อกลายพันธุ์หรือการทำให้ได้ลักษณะที่ดีกว่าพันธุ์เดิม โดยทำให้เกิดต้นลูกที่มีลักษณะหลากกลายจากการแปรผันอันเนื่องจากถูกจำกัดอยู่ในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างจากธรรมชาติทั่วไป ผนวกกับการใช้สารก่อกลายพันธุ์ ดังมีรายงานการวิจัยที่ทำสำเร็จในพืชหลายชนิด เช่น กล้วย (Korn, 2007; Saradhuldhat and Silayoi, 2001 ; Van Duran *et al*., 1996) ทับทิม (Shao *et al*., 2003) เป็นต้น ในส่วนของขมิ้นชันมีการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์ที่น่าสนใจ ดังต่อไปนี้

ในปี ค.ศ. 1986 Mukhri และ Yamaguchi ได้ทดลองขยายพันธุ์ขมิ้นชันโดยการเพาะเลี้ยงตาจากเหง้าบนอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่าทำให้เกิดต้นและรากได้ดี แต่ถ้าเพิ่มความเข้มข้นสูงขึ้นเป็น 10 มิลลิกรัม/ลิตรร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร จะเกิดเป็นแคลลัส และ เอ็มบริออยด์ (Embryoid) หรือถ้าในอาหารมี BA ความเข้มข้น 10.0 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 15 มิลลิกรัม/ลิตร จะทำให้เกิดแคลลัส และถ้าย้ายแคลลัสไปเลี้ยงในอาหารที่มี NAA และ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร จะเกิดยอดจำนวนมาก จากผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่า การชักนำให้เกิดแคลลัสต้องใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในความเข้มข้นสูง โดยเฉพาะในกลุ่ม Auxin และสามารถชักนำให้เกิด เอ็มบริออยด์ ได้โดยย้ายแคลลัสไปเลี้ยงในอาหารที่มีฮอร์โมนต่ำ ๆ ส่วนการชักนำให้เกิดยอดต้องใช้ BA

ต่อมา Zapata และคณะ (2003) ได้ศึกษาการขยายพันธุ์ขมิ้นชันจากลำต้นที่ติดกับเหง้าโดยนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี 2, 4-D ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ BA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสและพัฒนาไปเป็นยอดและต้นใหม่ที่สมบูรณ์ได้ในอาหารที่มี IAA ร่วมกับ Kinetin แล้วย้ายออกอนุบาลโดยใช้เทคนิค Hydroponic system ทำให้ต้นกล้ามีอัตราการรอดชีวิตสูง

Rahman และคณะ (2004) รายงานการเพาะเลี้ยงตาจากเหง้าของขมิ้นชันในสภาพปลอดเชื้อเช่นกัน พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร ทำให้เกิดหน่อใหม่จำนวนมาก ส่วนรากของหน่อใหม่เกิดได้ดีในอาหารที่ลดปริมาณธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองของสูตร MS ลงกึ่งหนึ่งแล้วเติม NAA, IBA หรือ IAA 0.1-1.0 มิลลิกรัม/ลิตร แต่ IBA ให้จำนวนรากและความยาวรากดีที่สุด ประมาณร้อยละ 70 ของต้นที่เกิดขึ้นรอดตายเมื่อย้ายปลูกในแปลงปลูกจริง

Islam และคณะ (2004) ได้ทำการขยายพันธุ์ขมิ้นชันในสภาพปลอดเชื้อโดยเริ่มจากเพาะเลี้ยงตาของเหง้าในอาหารสังเคราะห์ที่ไม่มีฮอร์โมน 4 สัปดาห์ ทำให้เกิดตาเล็ก ๆ ขึ้น แล้วนำมาทดลองศึกษาผลของของปริมาณน้ำตาลในอาหารเพาะเลี้ยง พบว่าอาหารที่เติมน้ำตาลทรายร้อยละ 9 ให้ผลในการชักนำให้เกิดหน่อใหม่ดีที่สุดแต่ต้องเพาะเลี้ยงในที่มืด ส่วนระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช พบว่า NAA ความเข้มข้น 0.3 ไมโครโมลาร์ และ BA ความเข้มข้น 12.0 ไมโครโมลาร์ ทำให้เกิดหน่อใหม่ได้มากที่สุด

Nayak และ Naik (2006) ทดลองเพาะเลี้ยงเหง้าหลักของขมิ้นชันในอาหารเหลวสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 13.3 ไมโครโมลาร์ และ น้ำตาลทรายร้อยละ 6 เกิดหน่อเล็ก ๆ (Micro-shoots) จานวนมากบริเวณฐานของตาที่เพาะเลี้ยง จากการศึกษาผลผลิตเหง้าของต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ปลูกจากเหง้าในธรรมชาติ พบว่าต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้ผลผลิตมากกว่า

รายงานการวิจัยในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของขมิ้นชันยังคงมีอยู่อย่างต่อเนื่อง โดยมีการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับความสำเร็จในการขยายพันธุ์ขมิ้นชันโดยใช้เหง้าในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อให้ได้ขั้นตอนและวิธีการที่เหมาะสม (Protocol) สามารถนำไปใช้ระดับอุตสาหกรรมเกษตรได้อย่างแท้จริง จนกระทั่งมาถึงปี ค.ศ. 2005 Nasirujjaman *et al.* ได้ทดลองเปลี่ยนสูตรอาหารมาใช้สูตร WPM (Lloyd and McCown, 1981) โดยเพาะเลี้ยงตาจากเหง้าอีกเช่นกัน ในอาหารเติม BA อย่างเดียว และ BA ร่วมกับ NAA จากการทดลองพบว่า มีการตอบสนองในระดับของตาที่เพาะเลี้ยงแบบต่าง ๆ อาหารที่มี BA 4.0 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร เกิดยอดมากที่สุด ภายในเวลาเพียง 2 สัปดาห์ และมียอดเฉลี่ย 7 ยอด และยังพบว่าหน่อที่เกิดขึ้นเกิดรากได้เองหลังเกิดหน่อไม่นาน ต่อมาสามารถย้ายปลูกในแปลงได้สำเร็จ

Panda *et al*. (2007) ได้พัฒนาขั้นตอนและวิธีการขยายพันธุ์ขมิ้นชัน โดยใช้ตาข้าง (Lateral bud) ของเหง้าขมิ้นชัน พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงไป 45 วัน ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงเกิดยอดจำนวนมากบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัม/ลิตร และได้ทำการศึกษาการแปรผันทางพันธุกรรมอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อและในแปลงปลูกมากกว่า 26 เดือนโดยใช้เทคนิคไซโตโฟโตเมทรี (Cytophotometry analysis) และ RAPD ไม่พบว่าเกิดการกลายพันธุ์ของต้นขมิ้นชันที่ได้จากการขยายพันธ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

อย่างไรก็ตามผลการทดลองบางส่วนที่ผ่านมายังให้ผลแตกต่างจากผลการวิจัยของ Naz *et al*. (2009) ที่เพาะเลี้ยงตาของเหง้าขมิ้นชันเช่นกันโดยใช้อาหารสูตร MS โดยพบว่าความเข้มข้นของ BA เป็นปัจจัยสำคัญอย่างยิ่ง กล่าวคือ ถ้าความเข้มข้นของ BA มากขึ้น จะทำให้จำนวนหน่อเพิ่มขึ้นแต่ความยาวจะลดลง ส่วนการใส่ NAA ร่วมกับ BA จะส่งผลเสียทำให้จำนวนหน่อเกิดใหม่ลดลงอย่างชัดเจน และยังรายงานเพิ่มเติมว่า TDZ (Thidiazuron) ชักนำให้เกิดหน่อใหม่ได้น้อยกว่า BA จากผลการทดลองนี้ แสดงให้เห็นว่า สูตรอาหารและชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชจะส่งผลต่อการเกิดหน่อใหม่ของขมิ้นชันอย่างแน่นอน

Roopadarshini (2010) ได้พัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขมิ้นชันเศรษฐกิจสายพันธุ์ Suguna ได้สำเร็จ พบว่าอาหารสูตร LBSM ที่มี BA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดยอดใหม่จำนวนมาก ส่วนอาหารที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสเนื้อแน่นสีขาวครีมจากตายอดของหน่อและพัฒนาไปเป็นต้นใหม่ได้เมื่อย้ายเลี้ยงในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 3.5 มิลลิกรัม/ลิตร หน่อที่เกิดขึ้นจะเกิดรากได้เองในอาหารเดิมโดยไม่ต้องย้ายไปเลี้ยงในอาหารใหม่ และแยกออกไปปลูกในแปลงมีอัตรารอดตายสูงถึงร้อยละ 95

2.7 การปรับปรุงพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ

การปรับปรุงพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ สามารถทำได้หลายวิธี เช่นใช้สารเคมีหรือรังสีต่างๆ แล้วอาศัยการควบคุมภายใต้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทำให้เกิดลักษณะดี แข็งแรง หรือต้านทานต่อโรคและแมลง รวมทั้งอาจจะให้ผลผลิตสูงกว่าเดิม งานวิจัยที่เกี่ยวข้องส่วนใหญ่เป็นงานวิจัยที่เกี่ยวกับพืชเศรษฐกิจประเภทอาหารและไม้ดอกไม้ประดับ มีงานวิจัยไม่มากที่ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของพืชสมุนไพร โดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชสมุนไพรไทยมีการศึกษาวิจัยกันน้อยมาก ไม่ว่าจะเป็นการใช้รังสีหรือการใช้สารเคมีปรับปรุงพันธุ์ ทำให้พืชเศรษฐกิจหลายชนิดของไทยมีผลผลิตต่ำเมื่อเทียบกับพืชชนิดเดียวกันของต่างประเทศ

สภาพแวดล้อมที่พืชถูกเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อและมีสารเคมีหลายชนิดในอาหารก็มีส่วนทำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้เช่นกัน ซึ่งอาจจะเกิดขึ้นหลากหลายรูปแบบ ยิ่งมีการใช้สารก่อกลายพันธุ์ผสมลงในอาหารเลี้ยงด้วยแล้ว ยิ่งส่งผลต่อการเกิดปรากฏการณ์ดังกล่าวได้อย่างมาก ดังนั้นผลผลิตที่เกิดขึ้นจึงต้องมีการตรวจสอบวินิจฉัยด้วยเทคนิควิธีต่าง ๆ เช่น การนับจำนวนโครโมโซมในระยะเมตาเฟสของเซลล์เนื้อเยื่อเจริญ การเปรียบเทียบขนาดของเซลล์คุม การวิเคราะห์ปริมาณดีเอ็นเอด้วยโฟลไซโทเมทรี การนับจำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม หรือการใช้เทคนิควิธีระดับโมเลกุล ทำให้ทราบลักษณะที่แท้จริงของต้นพืชที่เกิดใหม่ได้ การทำให้เกิดการแปรผันของลักษณะพันธุกรรมด้วยการใช้วิธีการดังกล่าวไม่สามารถคาดการณ์ผลที่จะเกิดขึ้นได้ว่าจะไปในทิศทางใด แต่สามารถตรวจสอบหรือคัดเลือกด้วยวิธีทางวิทยาศาสตร์อย่างใดอย่างหนึ่งหรือหลายอย่างได้ที่กล่าวมาแล้วข้างต้นได้

ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์พบว่า การชักนำให้เกิดการเพิ่มชุดโครโมโซมก็เป็นเทคนิคหนึ่งที่ทำให้ได้พืชพันธุ์ใหม่ได้ เพราะต้นพืชที่เกิดใหม่มีลักษณะทางพันธุกรรมและการแสดงออกด้านต่างๆ แตกต่างจากต้นเดิม มีผลการวิจัยที่ประสบความสำเร็จในพืชหลายชนิด เช่น กล้วยเล็บมือนาง (Korn, 2007) กล้วยไข่ (Silayoi, 2000) บอนประดับ (Thao *et al*., 2003) เป็นต้น สารเคมีที่นิยมใช้ในงานวิจัยประเภทนี้ เช่น โคลชิซิน (Colchicin) ออริซาลิน (Oryzalin) เป็นต้น สิ่งที่เป็นไปได้สูงคือ การเกิดพอลิพลอยด์ (Polyploidy) ซึ่งอาจจะเป็น เตตระพลอยด์ (Tetraploid, 2n=4x) เฮกซาพลอยด์ (Hexaploid, 2n=6x) และ ออกตะพลอยด์ (Octaploid, 2n=8x) หรือมากกว่านั้น (Van Duran *et al*., 1996) แม้แต่ในธรรมชาติยังพบว่ามีพืชหลายชนิดเป็นพอลิพลอยด์ ที่รู้จักกันดีคือ กล้วย มีทั้งดิพพลอยด์ (2n=2x=22) เช่น กล้วยเล็บมือนาง กล้วยสา ตริบพลอยด์ (2n=3x=33) เช่น กล้วยหอมทอง กล้วยน้ำว้า กล้วยนางพญา เป็นต้น หรือแม้แต่ เตตระพลอยด์ เช่น กล้วยเทพรส (2n=4x=44) ซึ่งจะเห็นว่ากล้วยที่มีระดับชุดโครโมโซมมากกว่าจะมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่มากกว่าด้วย สอดคล้องกับรายงานวิจัยหลายฉบับที่พบว่าการเปลี่ยนแปลงระดับชุดโครโมโซมทำ

ให้เกิดลักษณะที่ดีกว่าต้นแม่ที่เป็น Diploid (2n=2x) อย่างชัดเจน สามารถใช้ประโยชน์ในเชิงการค้าได้ นอกจากนี้แล้วยังพบว่ามีพืชบางชนิดมีอัตราการการเป็นหมัน (Sterility) ลดลงเมื่อระดับชุดโครโมโซมเปลี่ยนไป ทำให้สามารถปรับปรุงพันธุ์โดยผ่านการผสมพันธุ์แบบอาศัยเพศได้

เป็นที่ทราบกันดีในกลุ่มนักวิทยาศาสตร์ว่าอย่างน้อยที่สุดพอลิพลอยด์มีลักษณะที่ดีบางอย่างเสมอ เช่น การมีขนาดของลำต้น ใบ ราก ดอกและผลใหญ่กว่าดิพลอยด์ สีใบเข้มกว่า ใบหนาและกว้างกว่า แต่มีจุดด้อยบ้างเหมือนกัน เช่น ออกดอกช้าและเนื้อเยื่อเปราะแตกหักง่าย บางครั้งอาจจะเป็นหมันหรือเตี้ยแคระ ลักษณะต่าง ๆ ของพอลิพลอยด์จึงขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์พืช ดังรายงานการวิจัยในพืชหลายชนิดที่ได้ผลการทดลองแตกต่างกัน (Korn, 2007; Silayoi, 2000)

สำหรับสารโคลชิซินเป็นสารกลุ่มอัลคาลอยด์ สามารถสกัดได้จากพืชบางชนิด เช่น Meadow saffron (*Colchicum autumnale*) ดองดึง (*Gloriosa superba* L.) เป็นต้น เป็นสารที่นิยมใช้สำหรับทำการชักนำให้เพิ่มชุดโครโมโซมมาเป็นเวลานานแล้วและได้ผลดี แต่มีความเป็นพิษสูงและเป็นสารก่อมะเร็ง ทำให้ผู้นำมาใช้ต้องระมัดระวังอย่างมาก ในขณะที่สารออริซาลินเป็นสารที่สังเคราะห์ขึ้นมาเมื่อไม่นานมานี้ แต่ผลการทดลองในพืชหลายชนิด พบว่าใช้ได้ผลดีกว่าโคลชิซินและมีความเป็นพิษน้อยมาก จึงมีความปลอดภัยในการทดลองมากกว่า (Hansen and Andersen, 1996; Rao and Suprasana, 1996; Van Tuyl *et al*., 1992; Vaughn and Lehnen, 1991)

การชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์ทำสำเร็จในพืชหลายกลุ่มด้วยกัน ได้แก่ ไม้ดอกไม้ระดับ เช่น ลิ้นมังกร (Eeckhaut *et al*., 2001a; Vainola, 2000) กุหลาบ (Roberts *et al*., 1990) และพืชเศรษฐกิจ เช่น กล้วย (Korn, 2007) องุ่น (Yang *et al*., 2006) ทับทิม (Shao *et al*., 2003) เป็นต้น ส่วนการปรับปรุงพันธุ์ขมิ้นชันด้วยวิธีนี้มีการศึกษาวิจัยน้อย ในพืชกลุ่มเดียวกันคือ ขิง (Wei Kun-Hua *et al*., 2011) พบว่า เมื่อชักนำให้เกิดต้นเตตระพลอยด์แล้วให้ผลผลิตสูงกว่าดิพลอยด์เป็นอย่างมาก การทำให้ขนาดของเหง้าเพิ่มขึ้นจึงส่งผลให้เพิ่มปริมาณผลผลิตต่อไร่ด้วย วิธีการใช้เทคนิคปลอดเชื้อร่วมกับสารเพิ่มชุดโครโมโซมเป็นเทคนิคการเพิ่มผลผลิตพืชทางหนึ่ง

การชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อจึงถูกนำมาใช้ในพืชหลายชนิด และมีการศึกษาเปรียบเทียบลักษณะต่างๆ รวมทั้งผลผลิตที่ต้องการภาคสนามขึ้น อย่างเช่นการศึกษาวิจัยของ มะลิวัลย์ และ พรพิมล (2551) ที่ศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและลักษณะสัณฐานวิทยาระหว่างปทุมมาลูกผสมดิพลอยด์กับเตตระพลอยด์ที่เกิดจากการเพิ่มชุดโครโมโซมด้วย โคลชิซินเป็นเวลา 2 ปี พบว่าเตตระพลอยด์ออกดอกช้ากว่า 7 วัน แต่ลักษณะหลายประการของเตตระพลอยด์ใหญ่กว่า เช่น ดอก อับเรณู เป็นต้น แต่ความสูงของต้นพอ ๆ กัน ส่งผลให้ปทุมมาเตตระ

พลอยด์ดีกว่าดิพลอยด์ เพราะมีลักษณะโตกว่าหลายประการเป็นที่ต้องการของตลาดไม้ดอกจึงสามารถปลูกเป็นการค้าได้ดีกว่าด้วย

ในกรณีของกล้วยเล็บมือนาง Korn (2007) พบว่า กล้วยเล็บมือนางเตตระพลอยด์ที่เกิดจากการใช้สารออริซาลินกับแคลลัส เมื่อย้ายปลูกในแปลงสามารถเจริญเติบโตได้ดีและแข็งแรงกว่าต้นดิพลอยด์ อีกทั้งแสดงลักษณะทางสัณฐาน เช่น ใบ ลำต้น ดอก และผล ที่โตกว่าต้นดิพลอยด์อย่างชัดเจน

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลองในสภาวะควบคุมที่ปลอดเชื้อ (*In vitro*) ผู้วิจัยได้เลือกพืชทดลองคือ ขมิ้นชันจากอำเภอบ้านตาขุนและจากอำเภอท่าชนะ โดยเก็บตัวอย่างเหง้า (Rhizome) สำหรับทดลองมาจากอำเภอบ้านตาขุนและอำเภอท่าชนะ ตามลำดับ นำมาเพาะให้เกิดหน่อทั้งในแปลงและในหลอดทดลองโดยการกระตุ้นด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช รวมทั้งการชักนำให้เกิดแคลลัสและชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ หลังจากนั้น นำแคลลัสและตาจากหน่อมาชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์ ศึกษาการเกิดราก การอนุบาล การย้ายปลูกลงดินและการคัดเลือกต้นพอลิพลอยด์ โดยมีขั้นตอนการดำเนินงานดังนี้

3.1 การเตรียมวัสดุและอุปกรณ์สำหรับทดลอง

3.1.1 เครื่องชั่ง (Balances)

3.1.2 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)

3.1.3 เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter)

3.1.4 ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ (Laminar air flow)

3.1.5 ตู้เย็น

3.1.6 เครื่องควบคุมอุณหภูมิ

3.1.7 บิกเกอร์ (Beaker)

3.1.8 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.1.9 อะลูมินัมฟอยด์ (Aluminum foil)

3.1.10 มีดผ่าตัด

3.1.11 ถุงพลาสติก

3.1.12 ปิเปตต์ (Pipette)

3.1.13 แท่งแก้วคน

3.1.14 พาราฟิล์ม (Para film)

3.1.15 กระบอกตวง (Cylinder)

3.1.16 ขวดเพาะเลี้ยงพร้อมฝา ขนาด 4 ออนซ์

3.1.17 ปากคีบ (Forceps)

3.1.18 ทิป (Tips)

3.2 การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเพาะเลี้ยง

3.2.1 สารเคมีที่ใช้เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

3.2.1.1 สารเคมีสำหรับสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)

3.2.1.2 น้ำตาลทราย (Sucrose)

3.2.1.3 วุ้น (Agar)

3.2.2 สารควบคุมการเจริญการเจริญเติบโตของพืช

3.2.2.1 BAP (Benzyl amino purine)

3.2.2.2 NAA (α-Naphthalene acetic acid)

3.2.2.3 2, 4-D (2, 4-dichloropheroxy acetic acid)

3.2.3 สารชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์

3.2.3.1 ออริซาลิน (Oryzalin)

3.3 การเตรียมสารเคมีที่ใช้ฟอกฆ่าเชื้อ

3.3.1 เอทานอล (Ethanol) ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ และ 95 เปอร์เซ็นต์

3.3.2 น้ำยาซักล้าง (Detergent)

3.3.3 โซเดียมไฮโปคลอไรต์ (Sodium hypochlorite)

3.4 การเตรียมสารอื่นๆ

3.4.1 ผงถ่าน (Activated charcoal) 0.1%

3.4.2 ดินร่วน

3.4.3 ดินร่วน ปุ๋ยที่มีธาตุอาหารหลัก สูตร 15-15-15 และ ปุ๋ยอินทรีย์

3.5. การเตรียมชิ้นส่วนพืช (Explants) สำหรับเพาะเลี้ยง

3.5.1 การเพาะเลี้ยงตาจากเหง้าขมิ้นชัน

นำเหง้าขมิ้นชันมาล้างให้สะอาด ผึ่งในตะแกรงไม้ให้แห้ง โดยไม่ต้องนำลงปลูกในดิน เลือกเหง้าทีมีขนาดเท่าๆ กัน และสมบูรณ์ดีมาใช้สำหรับทดลอง นำเหง้าที่เลือกไว้มาล้างให้สะอาดอีกครั้งด้วยน้ำยาล้างจาน (Teepol) 2-3 ครั้ง แล้วล้างน้ำอีก 2-3 ครั้ง ตัดเอาเฉพาะตาที่มีติดเหง้ายาวประมาณ 3-4 ซม. นำเข้าตู้ปลอดเชื้อ เพื่อฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นและเวลาต่างๆ กัน เพื่อศึกษาผลของสารดังกล่าวต่อการฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพ แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 2-3 ครั้ง ก่อนตัดแต่งตาอ่อนให้มีความยาวประมาณ 4-5 มม. นำลง

วางเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BAP 1.0 มก./ล. เพื่อทำการปรับสภาพทางสรีระวิทยาให้มีลักษณะใกล้เคียงกัน (Pretreatment) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อครบกำหนด จึงคัดเลือกตายอดที่มีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทิ้ง จนได้ปริมาณตายอดมากพอสำหรับการทดลองต่อไป จากการปฏิบัติดังกล่าวพบว่า จะได้ตายอดที่มีความยาวประมาณ 1-7 ซม. หลังจากนั้นจึงนำไปใช้เป็นชิ้นส่วนพืชทดลอง (Explants) สำหรับการทดลองต่อไป

3.5.2 การเพาะหน่อจากเหง้า

นำเหง้าขมิ้นชันมาล้างทำความสะอาดหลายๆ ครั้งด้วยน้ำประปา แล้วตัดเป็นท่อน ๆ ให้มีตาอ่อนอยู่ 2-3 ตา นำลงเพาะในกระบะที่มีดินผสมปุ๋ยเคมี (สูตร 15-15-15) ขุยมะพร้าวและปุ๋ยอินทรีย์ ในสัดส่วน 3:1:3:3 วางกระบะเพาะในที่มีร่มเงา รดน้ำทุกวันให้เปียกชุ่ม หลังจากนั้นประมาณ 4 สัปดาห์ จะได้หน่อที่มีความสูงประมาณ 5-10 ซม. คัดเลือกหน่อที่มีขนาดใกล้เคียงกันคือสูงประมาณ 8-15 ซม. มาใช้ทดลอง

3.6 การศึกษาการเกิดหน่อจากเหง้าขมิ้นชัน

3.6.1 การศึกษาการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

คัดเลือกเหง้าของขมิ้นชันจากทั้งสองแหล่งที่มีความสมบูรณ์ดีมาตัดแยกเอาเฉพาะส่วนตามาตัดแต่งให้มีขนาดไม่เกิน 5 มม. นำไปวางเลี้ยงเพื่อศึกษาอัตราการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์และอัตราการรอดหลังฆ่าเชื้อ โดยใช้โซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับระยะเวลาแช่ (ดังตารางที่ 3.1) เมื่อครบกำหนดให้ล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง จึงนำไปวางเลี้ยงในอาหารสูตร MS (1962) ที่เติม BAP 1.0 มก./ล. เมื่อครบกำหนด 4 สัปดาห์ บันทึกผลจำนวนที่ปนเปื้อนจุลินทรีย์ (Contamination) และจำนวนรอดตาย (Survival)

ตารางที่ 3.1 แผนการทดลองการฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์และระยะเวลาฟอกฆ่าเชื้อ

การฟอกฆ่าเชื้อ			
ครั้งที่ 1		ครั้งที่ 2	
NaOCl (%)	เวลา (นาที)	NaOCl (%)	เวลา (นาที)
10	10	5	5
10	20	5	10
20	10	10	5
20	20	10	20

3.6.2 การศึกษาผลของ BAP

นำตายอดที่ได้จากการปรับสภาพทางสรีระวิทยาอายุ 30 วัน มาตัดแต่งให้เหลือเฉพาะตาขนาดประมาณ 4-5 มม. นำลงเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้นต่าง ๆ (0, 1.5, 3.5, 5.5, 7.5 มก./ล.) เป็นเวลา 6 สัปดาห์ เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการเกิดหน่อใหม่ของตายอดขมิ้นชันแต่ละสูตร เมื่อครบกำหนด บันทึกจำนวนหน่อที่เกิดขึ้นและลักษณะของหน่อที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยง

3.7 การศึกษาการสร้างแคลลัสของขมิ้นชัน

3.7.1 การชักนำแคลลัสจากเหง้าแก่ด้วย 2, 4-D

นำตาของเหง้าขมิ้นชันที่ตัดแต่งเรียบร้อยแล้ววางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D รวม 4 สูตร (0, 1.5, 3.5, 5.5 มก./ล.) สูตรละ 10 ซ้ำ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ เมื่อครบกำหนดบันทึกผลการทดลอง พร้อมทั้งบันทึกภาพและลักษณะของแคลลัส

3.7.2 การชักนำแคลลัสจากหน่อ

3.7.2.1 การศึกษาผลของ 2,4-D นำหน่อขมิ้นชันมาล้างทำความสะอาด ตัดใบส่วนปลายทิ้ง ให้เหลือเฉพาะโคนต้นที่มีความยาวประมาณ 5 ซม. ลอกกาบใบแก่ทิ้ง นำไปฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที แล้วย้ายชิ้นเนื้อเยื่อไปฟอกฆ่าเชื้ออีก 1 ครั้ง ที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ลอกกาบใบให้เหลือเฉพาะกาบใบอ่อนและโคนต้น ตัดเป็น 2 ท่อน แต่ละท่อนยาว 1.5 ซม. ประกอบด้วย ส่วนที่ 1 คือ ส่วนโคนที่มีตา และส่วนที่ 2 คือลำต้นอ่อนเทียม นำแต่ละส่วนวางเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ (0, 1.5, 3.5, 5.5 มก./ล.) เป็นเวลา 6 สัปดาห์ เมื่อครบกำหนดบันทึกผลการทดลอง พร้อมทั้งบันทึกภาพ

3.7.2.2 การชักนำแคลลัสจากหน่อด้วย NAA ตัดปลายยอดจากหน่อขมิ้นชันวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA (0, 0.5, 1.5, 3.5, 5.5 มก./ล.) ร่วมกับ BAP (0, 0.5, 1.5 มก./ล.) รวม 15 สูตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ เมื่อครบกำหนดบันทึกผลการทดลอง พร้อมทั้งบันทึกภาพ

3.8 การชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัส

คัดเลือกแคลลัสสีน้ำตาลอ่อนที่มีคุณภาพดี กล่าวคือต้องเป็นแคลลัสที่มีลักษณะเป็นเอ็มบริโอเจนนิกแคลลัส (Embryogenic callus) ที่มีลักษณะเนื้อแน่น มาตัดแยกขนาดให้เท่าๆ กัน แล้วนำไปวางเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมหลายๆ ครั้งเพื่อให้ได้ปริมาณมากพอ เมื่อเจริญเติบโตมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2.5 ซม. จึงย้ายไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่เติม NAA (0, 0.1, 0.5 มก./ล.)

ร่วมกับ BAP ความเข้มข้นต่างๆ กัน (0, 1.5, 3.0 มก./ล.) รวมทั้งสิ้น 9 สูตร เพื่อชักนำให้เกิดเป็นต้น ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 6 สัปดาห์ จึงบันทึกผลการทดลอง

3.9 การชักนำราก (Root induction)

เนื่องจากพืชในสกุลขมิ้น (Genus Curcuma) เป็นพวกที่มีเหง้าใต้ดิน จึงสามารถเกิดรากได้ง่ายตามธรรมชาติ ถึงแม้ว่าจะนำมาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อแล้วก็ยังมีพฤติกรรมดังกล่าว แต่อาจจะมีรากเกิดขึ้นไม่มาก หรือรากอาจจะมีการเจริญไม่ดี ล่าช้าหรือรากฟุ้งกระจายไม่สามารถกำหนดทิศทางแน่นอนได้ ดังนั้นจึงมีการศึกษาการเกิดรากโดยอิทธิพลของสาร 2 ชนิดคือ ผงถ่านและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่นิยมใช้ในการชักนำรากของพืช คือ IBA หรือ NAA

3.9.1 การศึกษาผลของ NAA ต่อการเกิดราก

ตัดแยกต้นอ่อนของขมิ้นชันทั้งสองพันธุ์ที่เกิดขึ้นจากแคลลัสหรือกลุ่มตาออกมาเป็นต้นเดี่ยวๆ เพื่อนำลงทดสอบการเกิดรากในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0, 1.0, 3.0 และ 5.0 มก./ล. เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ จึงบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นพร้อมบันทึกภาพ

3.9.2 การศึกษาผลของผงถ่านต่อการเกิดราก

ตัดแยกต้นอ่อนที่เกิดขึ้นจากแคลลัสหรือกลุ่มตาออกมาเป็นต้นเดี่ยวๆ เพื่อนำลงทดสอบการเกิดรากในอาหารที่มีผงถ่าน 100 มก./ล. โดยมีชุดควบคุมสำหรับเปรียบเทียบผลการทดลองคือ อาหารที่ไม่เติมผงถ่าน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จึงบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นพร้อมบันทึกภาพ

3.10 การอนุบาลและการย้ายปลูกลงดิน

การอนุบาลและย้ายปลูกต้นขมิ้นชันที่ไม่มีรากประยุกต์ใช้วิธีการของ Korn (2007) โดยนำหน่อขมิ้นชันที่ชักนำรากสำเร็จและมีความแข็งแรงดี นำมาล้างน้ำเอาวุ้นที่ติดรากออกให้หมด แล้วตัดใบออกบางส่วน ก่อนแช่ส่วนเหง้าที่มีรากไว้ในภาชนะที่มีน้ำสะอาดพอท่วมราก วางไว้ในที่ร่มมีแสงต่ำๆ ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 1 สัปดาห์ ก่อนย้ายไปปลูกในกระถางดินที่มีดินร่วนผสมปุ๋ยอินทรีย์ วางปลูกในที่ร่มเงารดน้ำให้ชุ่มตลอดในช่วงสองสัปดาห์แรก เมื่อครบ 4 สัปดาห์ ให้ฉีดพ่นด้วยปุ๋ยเคมีชนิดน้ำ N-P-K สูตร 15-15-15 หลังจากนั้นรดน้ำสัปดาห์ละครั้ง จะทำให้ต้นขมิ้นชันแข็งแรงตั้งตัวได้

3.11 การศึกษาการเกิดพอลิพลอยด์ (Polyploidy)

3.11.1 การชักนำพอลิพลอยด์จากแคลลัส

ทำการตัดแยกแคลลัสสีน้ำตาลอ่อนให้มีขนาดเท่าๆ กัน แล้วย้ายเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตรเดิม จนกระทั่งเจริญเติบโตมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2.5 ซม. จึงย้ายไปลงแช่ในอาหารเหลวที่มีสารออริซาลิน ความเข้มข้น 3.0 มก./ล. เป็นเวลานาน 0, 24, 48, 72 และ 120 ชม. รวม ทั้งสิ้น 5 สูตร เมื่อครบกำหนดเวลาดังกล่าว จึงล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วประมาณ 3 ครั้ง แล้ววางเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 3.0 มก./ล. และ NAA 0.1 มก./ล. เป็นเวลา 6 สัปดาห์ แล้วบันทึกผลการทดลอง

3.11.2 การชักนำพอลิพลอยด์จากตาของหน่อ

ตัดตาจากหน่อขมิ้นชันทั้งสองพันธุ์ที่มีขนาดใกล้เคียงกัน นำลงแช่ในอาหารเหลวที่มีออริซาลิน ความเข้มข้น 3.0 มก./ล. เป็นเวลา 0, 24, 48, 72 และ 120 ชม. เมื่อครบกำหนดล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง นำไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่มี BAP ความเข้มข้น 3.5 มก./ล. เป็นเวลา 6 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดต้นใหม่ เมื่อครบกำหนดจึงบันทึกผลการทดลอง

3.12 การเก็บและวิเคราะห์ข้อมูล

3.12.1 การเก็บข้อมูลจากการทดลอง

3.12.1.1 จำนวนรากหรือหน่อหรือยอดใหม่ที่เกิดขึ้น

3.12.1.2 พรรณนาลักษณะที่เปลี่ยนแปลงโดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

3.12.1.3 จำนวนชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงที่ตอบสนองแบบต่างๆ

3.12.2 การวินิจฉัยระดับชุดโครโมโซม

3.12.2.1 ตรวจนับจำนวนปากใบจากภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ยี่ห้อ Nikon ที่กำลังขยาย 400 เท่า

3.12.2.2 เปรียบเทียบขนาดเซลล์คุม (Guard cell) หรือเซลล์ผิว (Epidermis) ที่กำลังขยาย 400 เท่า

3.12.2.2 เปรียบเทียบลักษณะภายนอก (Phenotype) ที่สังเกตได้ด้วยตาหรือเครื่องมือวัดที่เชื่อถือได้

3.12.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

3.12.3.1 การพรรณนาลักษณะที่สังเกตได้และภาพถ่ายจากบันทึกผลการทดลอง

3.8.3.2 การหาค่าเฉลี่ยและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยเทคนิค LSD test

3.8.3.3 การหาค่าร้อยละ (Percentage)

บทที่ 4
ผลการวิจัย

จากการทดลองศึกษาการชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์ในขมิ้นชันจากอำเภอบ้านตาขุนและจากอำเภอท่าชนะ โดยเริ่มจากการทดลองแก้ปัญหาการปนเปื้อนของชิ้นส่วนเพาะเลี้ยง การชักนำให้เกิดหน่อจำนวนมากจากตาของเหง้าและหน่อ การชักนำแคลลัสจากตาของเหง้าและหน่อ การชักนำให้เกิดต้นขมิ้นชันพอลิพลอยด์จากชิ้นส่วนตาของเหง้าและแคลลัสโดยใช้สารออริซาลิน การชักนำราก การอนุบาลและย้ายปลูกลงดิน และการตรวจหาต้นพอลิพลอยด์โดยวิธีต่างๆ ได้ผลการทดลองดังนี้

4.1 การศึกษาการสร้างหน่อของขมิ้นชัน

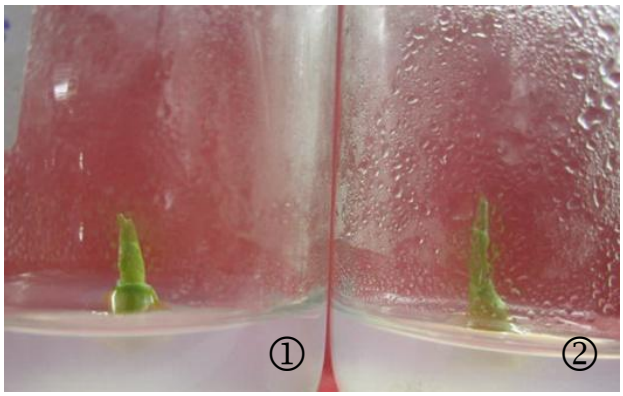
4.1.1 การศึกษาอัตราการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์

จากการนำตายอดจากเหง้าของขมิ้นชันทั้งสองสายพันธุ์ลงเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 1.0 มก./ล. เป็นเวลา 30 วัน เพื่อศึกษาอัตราการปนเปื้อนของเชื้อและปรับสภาพการเจริญเติบโตทางสรีระและสัณฐาน ให้มีลักษณะและขนาดใกล้เคียงกัน พบว่าชิ้นส่วนตามีการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์จำนวนมาก จึงได้วางแผนการทดลองแก้ปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธีฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ความเข้มข้นและเวลาต่างๆ กัน พบว่า ที่ความเข้มข้นต่ำๆ และเวลาแช่ฆ่าเชื้อน้อยๆ จะมีอัตราการปนเปื้อนจุลินทรีย์ค่อนข้างสูง แต่ตาที่ไม่ปนเปื้อนจะมีอัตรารอดตายมาก ซึ่งแตกต่างจากการใช้ความเข้มข้นสูงและเวลานาน พบว่าตายอดมีอัตราการปนเปื้อนต่ำแต่มีอัตรารอดตายลดลง เมื่อพิจารณาแนวโน้มแล้วพบว่า การใช้โซเดียมไฮโปคลอไรต์ที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที แล้วตามด้วย 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 10 นาที จะมีตาของขมิ้นชันพันธุ์บ้านตาขุนและพันธุ์ท่าชนะที่ฟอกฆ่าเชื้อมีอัตราปลอดเชื้อร้อยละ 40 และ 60 แต่มีอัตรารอดตายสูงร้อยละ 87.5 และ 91.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เป็นที่น่าสังเกตว่าแม้จะใช้โซเดียมไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้นสูงและเวลานานก็ยังคงมีตาขมิ้นชันบางส่วนปนเปื้อนอยู่ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นโคโลนี (Colony) ของเชื้อรา รายละเอียดดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 อัตราการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ของตาขมิ้นชันจากอำเภอบ้านตาขุนและจากอำเภอท่าชนะที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร สูตร MS ที่เติม BAP 1.0 มก./ล. เป็นเวลา 4 สัปดาห์

การฟอกฆ่าเชื้อ				ผล			
ครั้งที่ 1		ครั้งที่ 2		ปลอดเชื้อ (%)		รอดชีวิต (%)	
NaOCl (%)	เวลา (นาที)	NaOCl (%)	เวลา (นาที)	บ้านตาขุน	ท่าชนะ	บ้านตาขุน	ท่าชนะ
10	10	5	5	15	35	100.00	85.71
10	20	5	10	40	60	87.50	91.67
20	10	10	5	95	75	31.58	33.33
20	20	10	20	85	80	11.76	18.75

ลักษณะตาของขมิ้นชันทั้งสองพันธุ์ที่รอดตายจากเชื้อจุลินทรีย์และพิษของสารฟอกฆ่าเชื้อมีการเจริญเติบโตในอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. อยู่ในระดับดีโดยค่อยๆ เจริญเติบโตพัฒนาเป็นหน่อเดี่ยว อย่างไรก็ตาม อัตราการเจริญเติบโตทางสัณฐานของตามีความแตกต่างกัน โดยพิจารณาได้จากขนาดและความยาวหน่อไม่เท่ากัน สามารถจัดกลุ่มได้เป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่มีความยาวมากกว่า 2 ซม. และกลุ่มที่มีความยาวน้อยกว่า 2 ซม. ดังภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 ตาที่พัฒนาเป็นหน่อของขมิ้นชันที่มีความยาวน้อยกว่า 2 ซม. ① และ ยาวมากกว่า 2 ซม. ②

4.1.2 การศึกษาผลของ BAP ต่อการเกิดหน่อ

จากการทดลองนำตาขมิ้นชันที่เก็บมาจากทั้งสองแหล่งที่มีความยาวมากกว่า 2 ซม. ที่ได้จากการปรับสภาพทางสรีระในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 1.0 มก./ล. มาลงเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BAP ความเข้มข้นต่าง ๆ รวม 5 สูตร (0, 1.5, 3.5, 5.5, 7.5 มก./ล.) เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ตาขมิ้นชันตอบสนองต่อ BAP ได้ดี ทุกสูตรมีอัตราการตอบสนอง 100 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นสูตรที่เป็นชุดควบคุม (Control) ที่มีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด ส่วนสูตรที่มีการตอบสนองดีที่สุดคือสูตรที่เติม BAP 3.5 มก./ล. มีปริมาณหน่อเฉลี่ยแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกสูตรที่ระดับ .05 โดยขมิ้นชันจากบ้านตาขุนมีจำนวนหน่อเฉลี่ย 4.58 หน่อ ส่วนขมิ้นชันจากท่าชนะมีหน่อเฉลี่ย 4.21 หน่อ แนวโน้มการชักนำให้เกิดหน่อของ BAP มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้น ถ้าปริมาณ BAP ในอาหารเพาะเลี้ยงมีความเข้มข้นมากเกินไป จะทำให้ปริมาณการเกิดหน่อใหม่ลดลงดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 การเกิดหน่อของขมิ้นชันที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

BAP (มก./ล.)	บ้านตาขุน	ท่าชนะ
0	1.0^{d}	0.7^{d}
1.5	3.04^{b}	2.42^{b}
3.5	4.58^{a}	4.21^{a}
5.5	2.17^{c}	2.08^{b}
7.5	1.42^{d}	1.32^{c}

LSD_{05} ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05

ในช่วง 20 วันแรกหลังจากเพาะเลี้ยง พบว่าตาขมิ้นชันมีการเจริญเติบโตน้อยกว่าหลังจากวันที่ 20 อย่างชัดเจน โดยจะเห็นหน่อเล็กๆ ปรากฏขึ้นมาในช่วงวันที่ 21-30 และจะยืดยาวออกมาอย่างรวดเร็วในช่วงวันที่ 30-45 โดยเฉพาะในอาหารสูตรที่เติม BAP ความเข้มข้น 3.5 มก./ล. จะเห็นการแผ่ของใบและมีหน่อเล็กๆ หลายหน่อโผล่ออกมาจากด้านข้างรอบๆ ตา ส่วนสูตรที่เติม BAP ความเข้มข้นสูง (5.5 และ 7.5 มก./ล.) จะเกิดหน่อน้อยและหน่อมีลักษณะอวบสั้นเจริญเติบโตช้า นอกจากนี้ยังพบว่า ถ้าเพาะเลี้ยงต่อไปจนครบ 60 วัน หน่อเล็กๆ จะเกิดรากขึ้นได้เองเกือบทุกสูตร แต่จากการประเมินเปรียบเทียบเบื้องต้นด้วยการสังเกตพบว่าแต่ละสูตรเกิดปริมาณราก

แตกต่างกัน สูตรที่เจริญเติบโตดีจะมีปริมาณรากมาก ส่วนสูตรอาหารที่เป็นชุดควบคุม (ไม่เติม BAP) การเจริญเติบโตจะมีน้อยและไม่มีหน่อใหม่เกิดขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 4.2

นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้ทดลองย้ายเลี้ยง (Subculture) กลุ่มตาของขมิ้นชันทั้งสองพันธุ์ที่เกิดขึ้นไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 3.5 มก./ล. ไปหลายๆ รุ่น เพื่อประมวลความสามารถในการเกิดหน่อพบว่า กลุ่มตาขมิ้นชันดังกล่าวสามารถสร้างหน่อใหม่ได้ดีในอาหารสูตรนี้

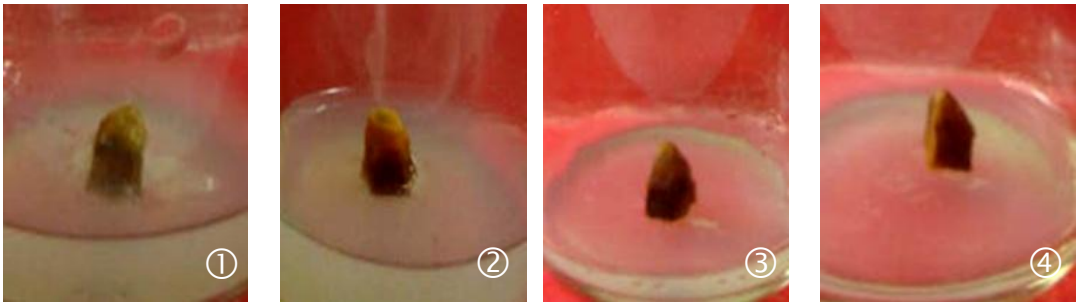
ภาพที่ 4.2 ลักษณะการเกิดหน่อของขมิ้นชันพันธุ์บ้านตาขุนในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BAP ความเข้มข้นแตกต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงนาน 45 วัน, 0 มก./ล. ①, 1.5 มก./ล. ②, 3.5 มก./ล. ③ และ 5.5 มก./ล. ④

4.2 การศึกษาการสร้างแคลลัสของขมิ้นชัน

4.2.1 การชักนำแคลลัสจากเหง้าแก่ด้วย 2, 4-D

เมื่อตัดตายอดของเหง้าแก่ขมิ้นชันที่ตัดแต่งเรียบร้อยแล้วลงวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่างๆ รวม 4 สูตร (0, 1.5, 3.5, 5.5 มก./ล.) เป็นเวลา 6 สัปดาห์ เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัส จากการทดลองพบว่า ตาขมิ้นชันที่นำลงเพาะเลี้ยงยังคงมีสีเขียวในช่วงระยะแรกๆ โดยเฉพาะในสูตรที่ไม่เติม 2, 4-D ซึ่งเป็นชุดควบคุม อย่างไรก็ตามหลังจาก

เพาะเลี้ยงผ่านไป 6 สัปดาห์ ก็ยังไม่เกิดแคลลัส ลักษณะตาในชุดควบคุมยังคงมีสีเขียว แต่ในอาหารที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นสูงๆ ตาจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด ดังภาพที่ 4.3



ภาพที่ 4.3 ลักษณะการตอบสนองของตาจากเหง้าขมิ้นชันที่เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS เติม 2, 4-D ความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์, 0 มก./ล. ①, 1.5 มก./ล. ②, 3.5 มก./ล. ③ และ 5.5 มก./ล. ④

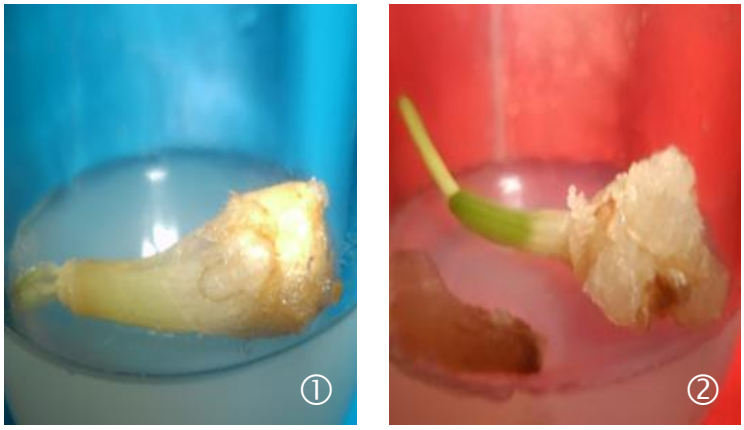
4.2.2 การชักนำแคลลัสจากหน่อด้วย 2, 4-D

หลังจากนำตาจากหน่อที่ได้จากแปลงเพาะที่ตัดเป็น 2 ท่อน ลงเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง โดยเติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่าง ๆ รวม 4 สูตร (0, 1.5, 3.5, 5.5 มก./ล.) เป็นเวลา 6 สัปดาห์ ปรากฏว่า ชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงท่อนที่ 1 มีการตอบสนองต่ออาหารเพาะเลี้ยงแตกต่างกันขึ้นอยู่กับอิทธิพลของความเข้มข้นของ 2, 4-D (ตารางที่ 4.3) ชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงไม่น้อยกว่า 70 เปอร์เซ็นต์เกิดแคลลัสในอาหารที่เติม 2,4-D ถ้าในอาหารเติม 2, 4-D ความเข้มข้นสูง (3.5 หรือ 5.5 มก./ล.) จะชักนำให้เกิดแคลลัสมากถึง 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์การตอบสนองของชิ้นส่วนต้นกล้าท่อนที่ 1 ของขมิ้นชันทั้งสองแหล่งที่นำลงเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์ บนอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่างๆ

ลักษณะการตอบสนอง	2,4-D (มก./ล.)							
	0		1.5		3.5		5.5	
	บ้านตาขุน	ท่าชนะ	บ้านตาขุน	ท่าชนะ	บ้านตาขุน	ท่าชนะ	บ้านตาขุน	ท่าชนะ
ตาย/ไม่เจริญ	50	30	0	0	0	0	0	0
แคลลัส	0	0	80	70	100	100	100	100
เจริญเป็นหน่อ (ต้น)	50	70	50	80	0	0	0	0
โซมาติกเอ็มบริโอ	0	0	0	0	0	0	0	0

สำหรับลักษณะการตอบสนองของชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงท่อนที่ 1 พบว่าในอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้น 1.5 และ 3.5 มก./ล. บริเวณเหง้าอ่อนและตามีการพองตัวอย่างเห็นได้ชัด (ภาพที่ 4.4 ①) และเมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 14 วัน จะสังเกตเห็นแคลลัสสีขาวเหลืองฟูขึ้นรอบๆ ส่วนฐานของเหง้าอ่อน และขยายขนาดโตขึ้นอย่างรวดเร็ว ในช่วงวันที่ 30-45 (ภาพที่ 4.4 ②) เมื่อทำการย้ายเลี้ยงในอาหารใหม่สูตรเดิมเพื่อเพิ่มจำนวน (Subculture) แคลลัสเหล่านี้จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด ไม่สามารถนำไปชักนำให้เกิดต้นได้



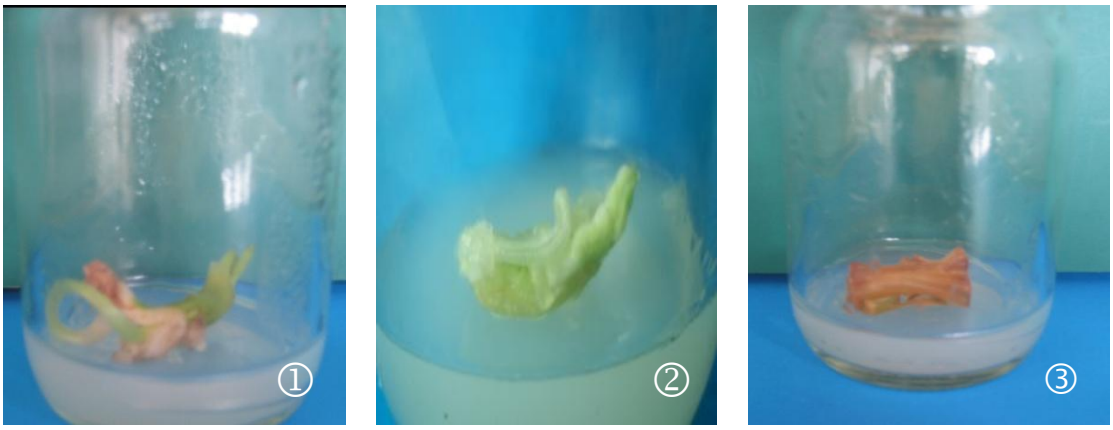
ภาพที่ 4.4 การตอบสนองของชิ้นส่วนต้นกล้าท่อนที่1 ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2, 4-D ความเข้มข้น 1.5 มก./ล., หลังเพาะเลี้ยง 7 วัน ① และ หลังเพาะเลี้ยง 6 สัปดาห์ ②

สำหรับท่อนที่ 2 ของหน่อที่ประกอบด้วยกาบใบอ่อนนั้น พบว่าเมื่อทำการเพาะเลี้ยงไปครบ 6 สัปดาห์ ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นสูงขึ้นมีแนวโน้มอัตราการตายลดลง สาเหตุมาจากเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงเกิดแคลลัสมากขึ้น จึงมีอายุได้ยาวนานขึ้น อย่างไรก็ตาม แคลลัสเหล่านี้มีขนาดจำกัดและเกิดเฉพาะบริเวณรอยตัดของชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงเท่านั้น และเป็นแคลลัสที่มีคุณภาพต่ำ ไม่สามารถนำมาใช้ในกระบวนการชักนำให้พัฒนาเป็นต้นได้ สูตรอาหารที่มีเปอร์เซ็นต์เกิดแคลลัสสูงสุด (ขมิ้นชันจากบ้านตาขุน ร้อยละ 70 และขมิ้นชันจากท่าชนะ ร้อยละ 50) คือ อาหารที่เติม 2, 4-D 5.5 มก./ล. ส่วนการตอบสนองแบบอื่นๆ ได้แก่ เกิดโซมาติกเอ็มบริโอ เกิดต้น และราก ไม่ปรากฏให้เห็นแม้ว่าจะเพาะเลี้ยงต่อไปนาน 2-3 เดือน (ตารางที่ 4.4)

ตารางที่ 4.4 เปอร์เซ็นต์การตอบสนองของชิ้นส่วนต้นกล้าท่อนที่ 2 ของขมิ้นชันทั้งสองแหล่งที่เพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์ บนอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D ความเข้มข้นต่างๆ

ลักษณะการตอบสนอง	2,4-D (มก./ล.)							
	0		1.5		3.5		5.5	
	บ้านตาขุน	ท่าชนะ	บ้านตาขุน	ท่าชนะ	บ้านตาขุน	ท่าชนะ	บ้านตาขุน	ท่าชนะ
ไม่ตอบสนอง/ตาย	100	100	100	100	70	80	30	50
แคลลัส	0	0	0	0	30	20	70	50
เจริญเป็นต้น	0	0	0	0	0	0	0	0
โซมาติกเอ็มบริโอ	0	0	0	0	0	0	0	0

ลักษณะทางสัณฐานที่สังเกตได้พบว่า ในช่วงแรกชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงจะเปลี่ยนเป็นสีเขียวหรือสีเขียวอ่อน อาจจะมีการยืดตัวของส่วนปลายยอดอ่อนออกมา (ภาพที่ 4.5 ①②) สำหรับชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้นสูง (5.5 มก./ล.) จะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้มและสีน้ำตาลตามลำดับ บางชิ้นสร้างแคลลัส ดังภาพที่ 4.5 ③ แต่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายในในระยะต่อมา



รูปที่ 4.5 ลักษณะการตอบสนองของชิ้นส่วนท่อนที่ 2, เปลี่ยนเป็นสีเขียวมียอดยืดยาว ①, คลายตัวและเกิดแคลลัสบริเวณรอยตัด ② และ สร้างแคลลัสบริเวณรอยตัดและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ③

4.2.3 การชักนำแคลลัสจากหน่อด้วย NAA

จากการตัดตาจากหน่ออ่อนของขมิ้นชันทั้งสองพันธุ์นำลงเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม NAA (0, 0.5, 1.5, 3.5, 5.5 มก./ล.) ร่วมกับ BAP (0, 0.5, 1.5 มก./ล.) ความเข้มข้นต่างๆ กัน ปรากฏว่า มีการตอบสนองต่อ NAA และ BAP ของตาจากหน่อขมิ้นชันทั้งสองแหล่งเป็น

อย่างดี โดยสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสลักษณะต่างๆ หลากหลายแบบ ถ้าเปรียบเทียบขมิ้นชันระหว่างแหล่งเก็บตัวอย่างพบว่ามีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งลักษณะของแคลลัสที่เกิดขึ้นจะมีสี ขนาดและรูปร่างคล้ายคลึงกัน สูตรอาหารที่ชักนำให้เกิดแคลลัสสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์คือ สูตรที่เติม NAA 1.5, 3.5 และ 5.5 มก./ล. ร่วมกับ BAP 0.5 และ 1.5 มก./ล. ส่วนสูตรที่เติม BAP 0.5 และ 1.5 มก./ล. ร่วมกับ NAA 0.5 มก./ล. จะชักนำให้เกิดหน่อ ส่วนลักษณะของแคลลัสได้แก่ สี การเกาะตัวและขนาด มีความแตกต่างกันขึ้นกับความเข้มข้นของ NAA และ BAP เป็นสำคัญ โดยอาหารที่มี NAA อย่างเดียวหรือความเข้มข้นสูงกว่า BAP แคลลัสส่วนใหญ่จะเกาะตัวกันแน่น สีของแคลลัสมีตั้งแต่ขาว ขาวครีม น้ำตาล น้ำตาลอ่อน และน้ำตาลเข้ม (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.5 ผลของ NAA ร่วมกับ BAP ความเข้มข้นต่างๆ ต่อตายอดจากหน่ออ่อนของขมิ้นชันจากบ้านตาขุนและจากท่าชนะ หลังจากเพาะเลี้ยง 6 สัปดาห์

NAA	BAP	ลักษณะการตอบสนอง		สีแคลลัส		ความถี่ (%)	
(มก./ล.)	(มก./ล.)	บ้านตาขุน	ท่าชนะ	บ้านตาขุน	ท่าชนะ	บ้านตาขุน	ท่าชนะ
0	0	หน่อเดี่ยว	หน่อเดี่ยว	-	-	100	80
0.5	0	แคลลัสเนื้อแน่น	แคลลัสเนื้อแน่น	ขาว	ขาว	35	40
1.5	0	แคลลัสเนื้อแน่น	แคลลัสเนื้อแน่น	ขาวครีม	ขาวครีม	45	50
3.5	0	แคลลัสเนื้อแน่น	แคลลัสเนื้อแน่น	น้ำตาลอ่อน	น้ำตาล	75	65
5.5	0	แคลลัสฟูฉ่ำน้ำ	แคลลัสฟูฉ่ำน้ำ	น้ำตาล	น้ำตาล	65	80
0.5	0.5	หน่อเดี่ยว	-	-	-	50	60
1.5	0.5	แคลลัสฉ่ำน้ำ	แคลลัสฉ่ำน้ำ	ขาวครีม	ครีม	100	100
3.5	0.5	แคลลัสเนื้อแน่น	แคลลัสเนื้อแน่น	น้ำตาลอ่อน	น้ำตาล	100	100
5.5	0.5	แคลลัสฟู	แคลลัสฟู	น้ำตาลเข้ม	น้ำตาลเข้ม	75	80
0.5	1.5	1-3 หน่อ	1-3 หน่อ	-	-	100	100
1.5	1.5	ยอด-แคลลัส	ยอด-แคลลัส	น้ำตาลอ่อน	น้ำตาลอ่อน	100	100
3.5	1.5	แคลลัสฉ่ำน้ำ	แคลลัสฉ่ำน้ำ	น้ำตาล	น้ำตาลเข้ม	100	100
5.5	1.5	แคลลัสฉ่ำน้ำ	แคลลัสฟู	น้ำตาลเข้ม	น้ำตาลเข้ม	100	100

จากการศึกษาความสามารถในการเจริญเติบโตของแคลลัสแต่ละชนิด พบว่าอาหารที่เติม NAA อย่างเดียว ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 3.0 มก./ล. ชักนำให้เกิดแคลลัสเนื้อแน่นสีขาว แคลลัสเนื้อแน่นสีขาวครีมและแคลลัสสีน้ำตาลอ่อนผิวมันวาว ตามลำดับ แคลลัสเหล่านี้สามารถ

ย้ายเลี้ยงบนอาหารใหม่สูตรเดิมได้ แต่การเพิ่มขนาดเป็นไปอย่างช้าๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแคลลัสสีน้ำตาลอ่อนมีผิวเป็นมันวาวมีการเจริญเป็นก้อนเล็กๆ อย่างต่อเนื่อง และเนื้อแคลลัสที่เกิดก่อนจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ส่วนแคลลัสสีน้ำตาลเข้ม สีน้ำตาล และสีขาวฟู มีการชะงักการเจริญเติบโตเมื่อย้ายเลี้ยงบนอาหารใหม่และเปลี่ยนเป็นสีดำในที่สุด (ตารางที่ 4.5)

4.3 การชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัส

เมื่อย้ายแคลลัสเนื้อแน่นสีน้ำตาลอ่อนและแคลลัสขาวครีมไปย้ายเลี้ยงบนอาหารใหม่สูตรเดิมเป็นเวลา 30 วัน พบว่า แคลลัสกลุ่มนี้สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้โดยมีการเจริญเติบโตช้าๆ ส่วนแคลลัสผิวฉ่ำน้ำสีน้ำตาลและสีน้ำตาลเข้มเปลี่ยนเป็นสีดำไม่สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ แคลลัสที่สามารถย้ายเลี้ยงได้ เมื่อทดลองย้ายไปเลี้ยงในอาหารดัดแปลงสูตร MMS ที่เติม Malt extract 100 มก./ล. กลูตามีน 100 มก./ล. ร่วมกับ NAA และ BAP ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า แคลลัสสีน้ำตาลอ่อนเท่านั้นที่สามารถพัฒนาเป็นต้นได้บนอาหารที่เติม BAP หรือ NAA ต่ำๆ ร่วมกับ BAP (ตารางที่ 4.6)

ตารางที่ 4.6 ผลของ NAA ร่วมกับ BAP ความเข้มข้นต่างๆ ในการชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัสของขมิ้นชันจากอำเภอบ้านตาขุนและจากอำเภอท่าชนะ

NAA	BAP	ลักษณะการตอบสนอง		ความถี่ (%)		จำนวนหน่อ ($\bar{x}$)	
(มก./ล.)	(มก./ล.)	บ้านตาขุน	ท่าชนะ	บ้านตาขุน	ท่าชนะ	บ้านตาขุน	ท่าชนะ
0	0	-	-	0	0	0	0
0	1.5	ต้น	ต้น	100	100	2.2^{d}	2.3^{d}
0	3.0	ต้น	ต้น	80	70	6.5^{b}	5.5^{b}
0.1	0	แคลลัส	แคลลัส	100	100	0	0
0.1	1.5	ต้น+ราก	ต้น+ราก	50	70	4.5^{c}	4.1^{c}
0.1	3.0	ต้น+ราก	ต้น+ราก	100	90	15.8^{a}	11.9^{a}
0.5	0	แคลลัส	แคลลัส	100	100	0	0
0.5	1.5	ต้น+ราก	ต้น+ราก	60	40	3.5^{c}	4.6^{c}
0.5	3.0	ต้น+ราก	ต้น+ราก	90	80	2.3^{d}	1.4^{d}

LSD_{05} ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05

เป็นที่น่าสังเกตว่า สูตรอาหารที่เติม NAA ร่วมกับ BAP ชักนำให้เกิดต้นที่มีรากงอกออกมาด้วย แต่ถ้ามีเฉพาะ BAP อย่างเดียวจะเกิดเฉพาะต้นเท่านั้น ปริมาณการเกิดต้นเฉลี่ยสูงสุดในขมิ้นชันจากบ้านตาขุน 15.8 ต้น และจากท่าชนะ 11.9 ต้น บนอาหารที่เติม NAA 0.1 มก./ล.ร่วมกับ BAP 3.0 มก./ล. ส่วนอาหารที่เติม NAA เพียงอย่างเดียวจะเจริญเป็นแคลลัสต่อไปแต่ลักษณะของแคลลัสเปลี่ยนไปมีสีขาวจับกันหลวมๆ (ตารางที่ 4.6)

ภาพที่ 4.6 การพัฒนาของต้นขมิ้นชันจากแคลลัส, แคลลัสสีน้ำตาลอ่อน ①, เกิดตุ่มสีเขียว ②, พัฒนาเป็นต้นขนาดต่างๆ ③ และ กลุ่มต้นอายุ 2 เดือน ที่ย้ายปลูกลงดิน ④

ลักษณะการเปลี่ยนแปลงจากแคลลัสเป็นต้นขมิ้นชัน เมื่อย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้นต่ำๆ ร่วมกับ BAP โดยมีสัดส่วนของ BAP สูงกว่า NAA จะเกิดตุ่มสีเหลืองเข้มและเปลี่ยนเป็นสีเขียวในเวลาประมาณ 3 สัปดาห์ (ภาพที่ 4.6, ②) โดยมีเปอร์เซ็นต์แคลลัสเกิดต้นสูงสุดในอาหารที่เติม NAA 0.1 มก./ล. ร่วมกับ BAP 3.0 มก./ล. (100 และ 90 เปอร์เซ็นต์ ในขมิ้นชันจากบ้านตาขุนและจากท่าชนะตามลำดับ) ตุ่มสีเขียวเหล่านี้จะเกิดขึ้นจำนวนมากและกลายเป็นยอดอ่อนโผล่ขึ้นมาในสัปดาห์ที่ 5 หลังจากย้ายเลี้ยง ต่อมาพัฒนาเป็นต้นกล้าขนาดต่างๆ ที่มีรากสมบูรณ์ (ภาพที่ 4.6, ②③) ประมาณสัปดาห์ที่ 8 ต้นกล้าจะสูงประมาณ 10-15 ซม. และมีรากฝอยจำนวนมาก เมื่อนำไปอนุบาลโดยล้างวุ้นที่ติดรากออก ตัดใบออกบางส่วน นำลงปลูกในขุยมะพร้าวเปียกในกระถางขนาดเล็ก นำกระถางวางอนุบาลในกล่องพลาสติกใสปิดฝามิดชิด ทำการเปิดฝา กล่องพ่นไอน้ำเป็นหมอกวันละครั้ง เพื่อให้มีความชื้นสูง เมื่อครบ 4 - 5 สัปดาห์ ต้นขมิ้นชันจะแข็งแรงเจริญเติบโตดี นำออกจากล่องพลาสติกใสวางเลี้ยงในสภาพธรรมชาติโดยพ่นปุ๋ยน้ำสูตร 15-15-15 สัปดาห์ละครั้ง ต้นขมิ้นชันจะเจริญเติบโตแข็งแรงดี (ภาพที่ 4.6, ④)

4.4 การชักนำราก (Root induction)

จากการสังเกตพบว่า หน่อที่เกิดขึ้นสามารถเกิดรากได้เองในอาหารที่ชักนำให้เกิดต้น คืออาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ BAP ความเข้มข้นต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาหารที่เติม NAA มีสัดส่วนน้อยกว่า BAP (ตารางที่ 4.6) หรือแม้แต่อาหารที่เติม BAP เพียงอย่างเดียว ที่เลี้ยงไว้โดยไม่ย้ายเลี้ยงเป็นเวลานาน (ไม่น้อยกว่า 45 วัน) การปล่อยให้เกิดรากเองในอาหารประเภทนี้ทำให้เสียเวลานานเกินไปกว่าจะได้ต้นขมิ้นชันที่มีรากสมบูรณ์พอที่จะนำไปปลูกลงดิน ดังนั้นการใช้ออกซินหรือสารกระตุ้นรากอย่างอื่นจะช่วยย่นระยะเวลาได้

4.4.1 การศึกษาผลของ NAA ต่อการเกิดราก

เมื่อแยกหน่อขมิ้นชันที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงไปชักนำรากในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าหน่อขมิ้นชันที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม NAA ทุกสูตร เกิดรากได้ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่งในอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.0 และ 3.0 มก./ล. มีปริมาณรากเกิดขึ้นเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่เติม NAA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05 (ตารางที่ 4.7)

ลักษณะพฤติกรรมของรากที่เกิดขึ้นบนอาหารที่เพาะเลี้ยงภายใต้การผสม NAA ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าส่วนใหญ่รากจะมีทิศทางการงอกกระจายหลายทิศทางรวมทั้งเจริญขึ้นเหนืออาหารวุ้น กล่าวคือเจริญไปในทิศทางหนีแรงโน้มถ่วงของโลก นอกจากนี้แล้วรากที่เกิดจากหน่อที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้นสูง (5.0 มก./ล.) มีแนวโน้มเกิดรากฝอยน้อย และมีลักษณะอวบใหญ่และความยาวจำกัด รวมทั้งส่วนของใบและลำต้นมีการเจริญเติบโตลดลงอย่างเห็นได้ชัด

เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่เติม NAA ในปริมาณน้อย (1.0 มก./ล.) ลักษณะดังกล่าวจะส่งผลต่ออัตรารอดเมื่อย้ายไปอนุบาลและย้ายปลูก

ตารางที่ 4.7 ผลของ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการเกิดรากของหน่อขมิ้นชันจากบ้านตาขุนและจากท่าชนะ หลังจากเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์

NAA (มก./ล.)	เกิดราก (%)		ราก เฉลี่ย ($\bar{x}$)	
	บ้านตาขุน	ท่าชนะ	บ้านตาขุน	ท่าชนะ
0	90	100	3.42 [c]	2.53 [b]
1.0	100	100	7.51 [a]	5.81 [a]
3.0	100	100	7.63 [a]	6.25 [a]
5.0	90	100	4.55 [b]	2.73 [b]

LSD_{05} ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05

4.4.2 การศึกษาผลของผงถ่านต่อการเกิดราก

จากการทดลองนำหน่อขมิ้นชันทั้งสองพันธุ์ที่เกิดขึ้นลงเลี้ยงเพื่อชักนำรากในอาหารสูตร MS ที่มีผงถ่าน 100 มก./ล. เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมผงถ่าน โดยไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชลงไปช่วยให้เกิดราก พบว่าอาหารที่เติมผงถ่านสามารถชักนำให้เกิดรากได้ดีกว่าอาหารที่ไม่เติมผงถ่าน หน่อที่เลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมผงถ่านเกิดรากช้าและน้อยกว่า ลักษณะรากที่เกิดขึ้นในอาหารที่ผสมผงถ่านจะเจริญดีมีรากฝอยจำนวนมาก คล้ายคลึงกับการเติม NAA ในอาหาร แต่รากไม่เจริญกระจายขึ้นข้างบนและมีทิศทางตามแนวแรงโน้มถ่วงของโลก (ภาพที่ 4.7)

รูปที่ 4.7 ตัวอย่างรากของขมิ้นชันที่มีรากฝอยจำนวนมากและมีทิศทางเจริญเข้าหาแรงโน้มถ่วงของโลกเมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติมผงถ่าน 100 มก./ล.

4.5 การอนุบาลและการย้ายปลูกลงดิน

การอนุบาลและย้ายปลูกต้นขมิ้นชันที่ไม่มีรากประยุกต์ใช้วิธีการของ Korn (2007) โดยนำหน่อขมิ้นชันที่ชักนำรากสำเร็จและมีความแข็งแรงดี นำมาล้างน้ำเอาวุ้นที่ติดรากออกให้หมด แล้วตัดใบออกบางส่วน ก่อนแช่ส่วนเหง้าที่มีรากไว้ในภาชนะที่มีน้ำสะอาดพอท่วมราก วางไว้ในที่ร่มมีแสงต่ำๆ ที่อุณหภูมิห้อง ประมาณ 1 สัปดาห์ ก่อนย้ายไปปลูกในกระถางดินที่มีดินร่วนผสมปุ๋ยอินทรีย์ วางปลูกในที่ร่มเงารดน้ำให้ชุ่มตลอดในช่วงสองสัปดาห์แรก เมื่อครบ 30 วัน ให้ฉีดพ่นด้วยปุ๋ยเคมีชนิดน้ำ N-P-K สูตร 15-15-15 หลังจากนั้นรดน้ำสัปดาห์ละครั้ง จะทำให้ต้นขมิ้นชันแข็งแรงตั้งตัวได้ เมื่อย้ายลงปลูกในดินจะประสบความสำเร็จได้ง่าย (ภาพที่ 4.8)

รูปที่ 4.8 ตัวอย่างต้นขมิ้นชันพันธุ์ท่าชนะที่ได้จากการเพาะเลี้ยงตาจากเหง้าหลังจากย้ายปลูกในดิน เป็นเวลา 2 เดือน

4.6 การชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์

4.6.1 การชักนำพอลิพลอยด์จากแคลลัส

ผู้วิจัยได้มีการทดลองเบื้องต้นโดยย้ายแคลลัสสีน้ำตาลอ่อนที่สามารถชักนำให้เกิดต้นได้บนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ร่วมกับ NAA ลงแช่ในอาหารเหลวสูตร MS ที่มีสารออริซาลินความเข้มข้น 3.0 มก./ล. เป็นระยะเวลา 0, 24, 48, 72, 120 ชม. แล้วย้ายไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BAP 3.0 มก./ล. และ NAA 0.1 มก./ล. พบว่า แคลลัสเปลี่ยนเป็นสีดำภายใน 1 สัปดาห์ และไม่มีหน่อขมิ้นชันทั้งสองพันธุ์พัฒนาขึ้นมาได้เลย

4.6.2 การชักนำพอลิพลอยด์จากตาของหน่อ

เมื่อทดลองนำตายอดที่ตัดมาจากหน่ออ่อนที่ตัดแต่งเอาส่วนปลาย กาบใบแก่และใบออกแล้ว ลงแช่ในอาหารเหลวสูตร MS ที่มีสารออริซาลิน ความเข้มข้น 3.0 มก./ล. เป็นเวลา 0, 24, 48, 72, 120 ชม. ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง วางเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BAP 3.5 มก./ล. เป็นเวลา 45 วัน พบว่า ชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงบางชิ้นที่แช่สารออริซาลินมีหน่อเกิดขึ้นได้ แต่การตอบสนองแตกต่างกันขึ้นกับระยะเวลาที่แช่ในออริซาลินเป็นสำคัญ โดยปริมาณการเกิดหน่อลดลงเมื่อระยะเวลาแช่ในออริซาลินนานขึ้น (ตารางที่ 4.8)

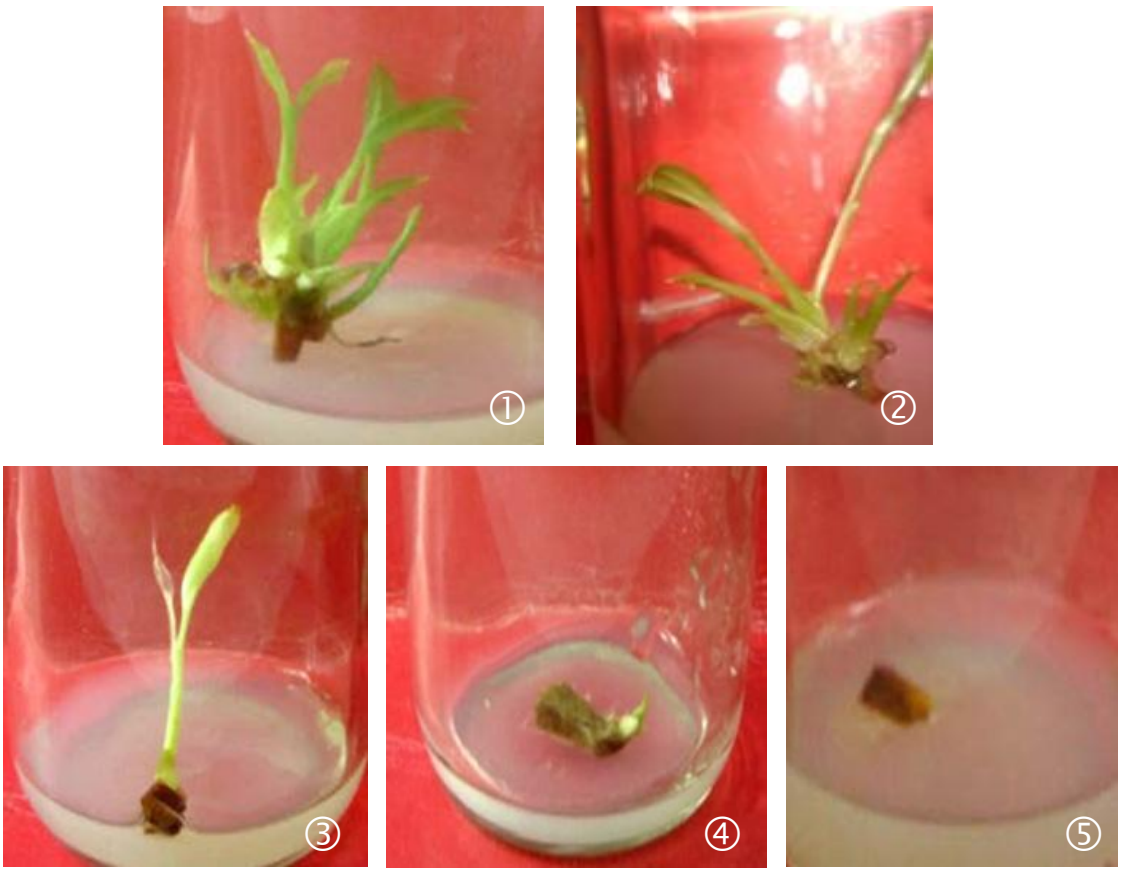
จากการสังเกตพบว่า ยิ่งใช้เวลาแช่นานยิ่งมีจำนวนหน่อและอัตราเจริญเติบโตของตาที่เพาะเลี้ยงลดลงอย่างเห็นได้ชัด (ตารางที่ 4.8 และภาพที่ 4.9 ②③④⑤) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อแช่นาน 120 ชม. จะทำให้ตาที่แช่ส่วนใหญ่แสดงอาการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด (ภาพที่ 4.9⑤)

ตารางที่ 4.8 การตอบสนองของตาขมิ้นชันที่ผ่านการแช่ในออริซาลินความเข้มข้น 3.0 มก./ล. เป็นเวลาแตกต่างกัน ก่อนย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BAP 3.0 มก./ล. และ NAA 0.1 มก./ล. เป็นเวลา 45 วัน

ระยะเวลาแช่ (ชม.)	เกิดหน่อ (%)		จำนวนหน่อเฉลี่ย ($\bar{x}$)	
	บ้านตาขุน	ท่าชนะ	บ้านตาขุน	ท่าชนะ
0	100	100	5.40[a]	6.20[a]
24	100	100	4.40 [b]	3.60[b]
48	100	100	2.40 [c]	3.20[b]
72	50	70	1.20[d]	1.80[c]
120	0	0	0	0

LSD_{05} ตัวอักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .05

สิ่งที่น่าสังเกตคือลักษณะทางใบและลำต้นของหน่อขมิ้นชันที่เกิดขึ้นจากตาที่แช่ในสารออริซาลินนาน 72 ชม. แสดงอาการใบเหลืองซีด ยอดเจริญเติบโตช้า และมีชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงบางอันตายไปไม่สามารถเกิดหน่อและเจริญเติบโตต่อไปได้ ส่วนการแช่นาน 120 ชม. ทำให้ตาที่เพาะเลี้ยงตายหมด ตาที่ผ่านการแช่นาน 0, 24 และ 48 ชม. ถ้าเลี้ยงต่อไปเป็นเวลานาน 2-3 เดือน จะพัฒนาเป็นกลุ่มต้นมากขึ้น รวมทั้งบางต้นมีรากเกิดขึ้นจนสามารถแยกออกจากกันแล้วย้ายไปอนุบาลได้ โดยไม่ต้องใช้ออกซินช่วยกระตุ้นการเกิดราก

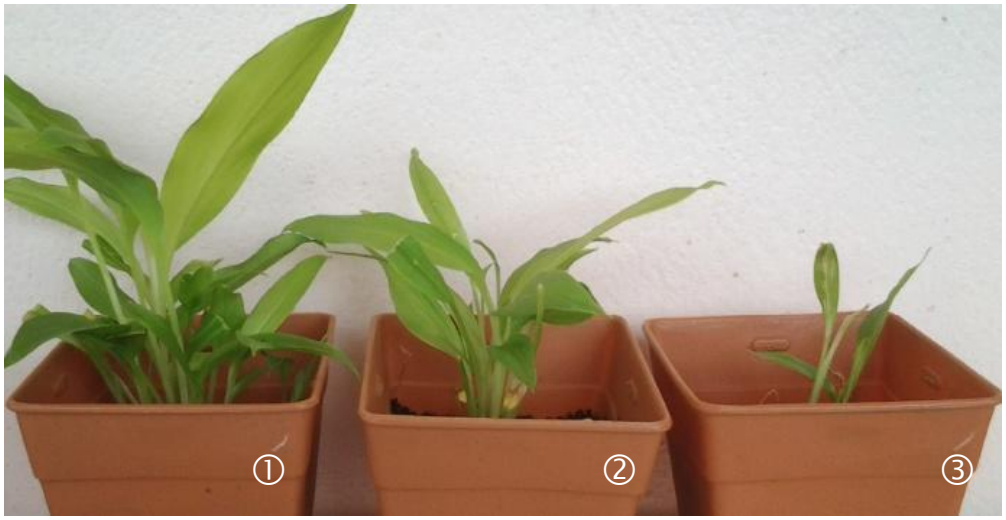


ภาพที่ 4.9 ลักษณะการตอบสนองของตาขมิ้นชันที่แช่ในอาหารเหลวสูตร MS ที่มีออริซาลิน 3.0 มก./ล. ในระยะเวลาแตกต่างกัน ก่อนย้ายไปเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA 3.5 มก./ล. นาน 6 สัปดาห์, ไม่แช่ ①, แช่ 24 ชม. ②, แช่ 48 ชม. ③, แช่ 72 ชม. ④ และ แช่ 120 ชม. ⑤

4.7 การคัดเลือกต้นพอลิพลอยด์

4.7.1 ศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐาน

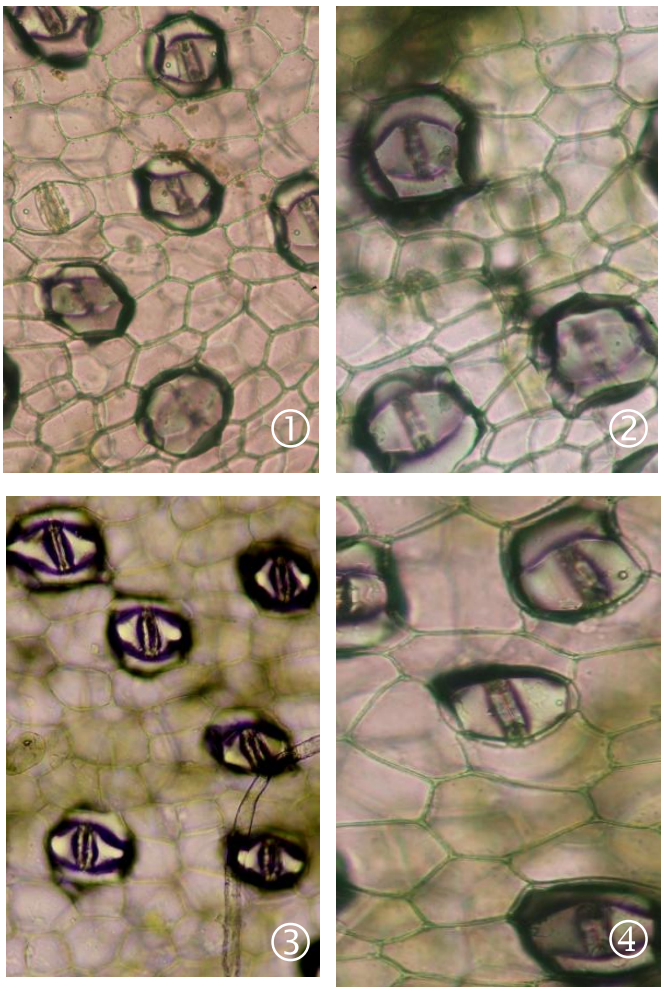
จากการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตเปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลองที่ผ่านการแช่ออริซาลิน พบว่า ชุดที่ผ่านการแช่ออริซาลินมีการเกิดหน่อที่ล่าช้ากว่ามาก สังเกตได้จากขนาดหน่อและปริมาณหน่อในช่วงระยะเวลาเพาะเลี้ยงเท่ากัน โดยกลุ่มต้นที่เกิดขึ้นจะมีแนวโน้มในการแตกหน่อและการเจริญทางลำต้นแปรผกผันกับระยะเวลาแช่ในออริซาลิน ดังแสดงในภาพที่ 4.8 นอกจากนี้เมื่อย้ายต้นที่เกิดขึ้นทั้งชุดควบคุมและชุดที่ผ่านการแช่ในออริซาลินไปอนุบาลและย้ายปลูก พบว่า บางต้นตายไปก่อนที่จะปลูกลงดิน โดยเฉพาะอย่างยิ่งต้นที่มีรากน้อย ลำต้นใหญ่ ใบสั้น จะรอดชีวิตน้อย ที่รอดชีวิตจะเจริญเติบโตช้ากว่าชุดควบคุมมาก ดังภาพที่ 4.10



รูปที่ 4.10 ลักษณะของต้นขมิ้นชันที่ได้จากการเพาะเลี้ยง อายุ 2 เดือน, ชุดควบคุม ①, แช่ในสารออริซาลิน 24 ชม. ② และ แช่ในสารออริซาลิน 48 ชม. ③

4.7.2 การศึกษาเปรียบเทียบขนาดของเซลล์คุมและเซลล์ผิว

จากการศึกษาเปรียบเทียบขนาดของเซลล์ผิวใบและเซลล์คุมที่กำลังขยาย 400 เท่า พบว่า เซลล์ผิวใบและเซลล์คุมของต้นขมิ้นชันมีขนาดแตกต่างกันเป็น 2 กลุ่ม กล่าวคือ กลุ่มที่มีขนาดเล็ก (ภาพที่ 4.11 ①②) เล็กกว่ากลุ่มที่มีขนาดใหญ่ (ภาพที่ 4.11 ③④) ประมาณ 2 เท่า ลักษณะดังกล่าวตรวจพบในขมิ้นชันทั้งสองพันธุ์ไปในทำนองเดียวกัน ทั้งนี้ไม่พบต้นขมิ้นชันที่มีขนาดเซลล์คุมและจำนวนเซลล์คุมที่แตกต่างออกไปจาก 2 กลุ่มนี้



ภาพที่ 4.11 เปรียบเทียบขนาดเซลล์ผิวใบและเซลล์คุมของขมิ้นชันจากอำเภอบ้านตาขุนชุดควบคุม (ดิพลอยด์) ① และ พอลิพลอยด์ ② และ ขมิ้นชันจากอำเภอท่าชนะชุดควบคุม (ดิพลอยด์) ③ และพอลิพลอยด์ ④

4.7.3 การศึกษาปริมาณปากใบจากผิวใบด้านล่าง

เมื่อสุ่มต้นขมิ้นชันที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาชุดละ 20 ต้น ทั้งชุดควบคุมและชุดที่แช่ในสารออริซาลินที่ปลูกไว้ในกระถางดินนาน 2 เดือน โดยนำใบมาลอกผิวใบด้านล่าง วางบนกระจกสไลด์ แล้วหยดน้ำสะอาด 1 หยด ปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ นำไปตรวจนับจำนวนปากใบด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

จากการศึกษาพบว่า การลอกเนื้อเยื่อผิวใบของขมิ้นชันค่อนข้างยาก มักจะมีเนื้อเยื่อชั้นสปันจิเซลล์ (Spongy cell) ติดมาด้วยทำให้มองเห็นรูปร่างไม่ชัดเจน แต่สามารถนับจำนวนปากใบได้ รวมทั้งมีเซลล์คุมและเซลล์ผิวบางส่วนที่สามารถถ่ายภาพเปรียบเทียบขนาดได้อย่างชัดเจน จึงสามารถใช้ในการศึกษาวินิจฉัยระดับชุดโครโมโซมของประชากรขมิ้นชันที่ได้จากการทดลอง

ดังกล่าวได้ โดยกลุ่มประชากรที่มีจำนวนปากใบต่อพื้นที่น้อยกว่าจะถูกประเมินเป็นพอลิพลอยด์ ส่วนกลุ่มที่มีจำนวนปากใบมากกว่าจะถูกประเมินเป็นดิพลอยด์ การเปรียบเทียบขนาดของเซลล์คุมและจำนวนปากใบทำให้จำแนกกลุ่มประชากรเป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มประชากรที่สุ่มมาจากกลุ่มควบคุมที่ไม่แช่ออริซาลินมีเซลล์คุมขนาดเล็กและมีปริมาณปากใบ ค่าเฉลี่ย 6.4-6.5 ส่วนกลุ่มประชากรที่ได้จากการแช่ชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงในสารออริซาลินมี 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีจำนวนปากใบน้อยซึ่งมีเซลล์คุมขนาดใหญ่มีค่าเฉลี่ยต่ำระหว่าง 3.8-4.0 และกลุ่มที่ขนาดเซลล์คุมเล็กและจำนวนปากใบมากมีค่าเฉลี่ย 6.2-7.0 กลุ่มนี้มีจำนวนมาก ดังแสดงในตารางที่ 4.9 และภาพที่ 4.11

ตารางที่ 4.9 ผลการศึกษาจำนวนปากใบด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า เพื่อวินิจฉัยระดับชุดโครโมโซมของต้นขมิ้นชันที่ผ่านการแช่ในออริซาลิน

เวลาแช่ออริซาลิน	จำนวนปากใบ ($\bar{x}$)		จำนวนต้นดิพลอยด์ (%)		จำนวนปากใบ ($\bar{x}$)		จำนวนต้นพอลิพลอยด์ (%)	
	บ้านตาขุน	ท่าชนะ	บ้านตาขุน	ท่าชนะ	บ้านตาขุน	ท่าชนะ	บ้านตาขุน	ท่าชนะ
0	6.4	6.5	20	20	-	-	-	-
24	6.5	6.6	20	20	-	-	-	-
48	6.4	6.2	18	17	4	3.9	2	3
72	6.7	6.2	13	15	3.9	3.8	7	5
120	-	-	-	-	-	-	-	-

จากตารางที่ 4.9 จะเห็นว่า ปริมาณต้นขมิ้นชันที่วินิจฉัยเป็นต้นพอลิพลอยด์จะแปรผันตามระยะเวลาที่แช่ชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงในสารออริซาลิน ถ้าแช่นาน 72 ชั่วโมง จะเกิดต้นพอลิพลอยด์สูงสุด (ขมิ้นชันจากบ้านตาขุน 7 ต้น และขมิ้นชันจากท่าชนะ 5 ต้น) การแช่ในระยะเวลาสั้นเกินไป (24 ชม.) จะไม่เกิดต้นพอลิพลอยด์

บทที่ 5

อภิปรายผลและสรุปผล

จากผลการทดลองศึกษาการชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์ในขมิ้นชันจากอำเภอบ้านตาขุน และจากอำเภอท่าชนะ โดยเริ่มจากการทดลองแก้ปัญหาการปนเปื้อนของชิ้นส่วนเพาะเลี้ยง การชักนำให้เกิดหน่อจำนวนมากจากตาของเหง้าและหน่อ การชักนำแคลลัสจากตาของเหง้าและหน่อ การชักนำให้เกิดต้นขมิ้นชันพอลิพลอยด์จากชิ้นส่วนตาของเหง้าและแคลลัสโดยใช้ออริซาลิน การชักนำราก การอนุบาลและย้ายปลูกลงดิน และการตรวจหาต้นพอลิพลอยด์ สามารถสรุปได้ดังนี้

5.1 การศึกษาการสร้างหน่อของขมิ้นชัน

5.1.1 การศึกษาอัตราการปนเปื้อนจุลินทรีย์

จากการทดลองแก้ปัญหาการปนเปื้อนของชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงโดยการทดลองหาความเข้มข้นและเวลาฆ่าเชื้อที่เหมาะสมของโซเดียมไฮโปคลอไรต์ พบว่า โซเดียมไฮโปคลอไรต์ไม่สามารถฆ่าเชื้อให้หมดได้ แต่ทำให้ปลอดเชื้ออยู่ในระดับมากและมีอัตรารอดตายสูง เมื่อใช้ความเข้มข้น 10% นาน 20 นาที ตามด้วย 5% นาน 10 นาที ผลการทดลองดังกล่าวทำให้มีตาขมิ้นชันรอดตายและปลอดเชื้ออยู่ในระดับน่าพอใจ ผลการทดลองนี้แตกต่างจากรายงานของ Chang and Chiley (1993) ที่ทดลองนำตาจากหน่อของขิง พันธุ์จินโนซ่า (Ginoza) มาฟอกฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง กล่าวคือ ครั้งที่ 1 ฟอกด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที ตามด้วยความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นก่อนนำไปเพาะเลี้ยง พบว่าสามารถฆ่าเชื้อได้มากถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจจะเกิดจากสภาพทางภูมิศาสตร์ของพื้นที่และชนิดของเนื้อเยื่อพืชเพาะเลี้ยง ส่วนปริมาณการตายของชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงอาจจะเป็นเพราะคุณลักษณะของโซเดียมไฮโปคลอไรด์เป็นสารที่มีความเป็นพิษสูง ถ้าหากใช้ในความเข้มข้นสูงและเป็นเวลานานจะทำให้เนื้อเยื่อที่ฟอกฆ่าเชื้อตายมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Maina *et al*. (2010) ที่ทดลองฟอกฆ่าเชื้อใบเลี้ยงของถั่งลิสง (*Arachis hypogea* L.) จำนวน 5 สายพันธุ์ ด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรด์และเมอคิวริกคลอไรด์ (Mercuric chloride) ก่อนนำไปเพาะเลี้ยง พบว่าใบเลี้ยงที่ถูกฟอกด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรด์เกิดต้นใหม่ได้น้อยกว่าใบเลี้ยงที่ถูกฟอกด้วยเมอคิวริกคลอไรด์ แสดงว่าโซเดียมไฮโปคลอไรด์มีความเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงสูง แต่ Badoni and Chauhan (2010) พบว่าทั้งโซเดียมไฮโปคลอไรด์และเมอคิวริกคลอไรด์ ให้ผลดีกับการฆ่าเชื้อและไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง ผลการทดลองที่แตกต่างกันนี้น่าจะมีสาเหตุจากชนิดและ

คุณลักษณะของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงที่ทำให้ทนทานต่อความเข้มข้นและระยะเวลาฟอกฆ่าเชื้อ รวมทั้งสภาพแวดล้อมตอนที่เก็บตัวอย่าง จะส่งผลต่อชนิดเชื้อและอัตราการปนเปื้อนเป็นอย่างมากจากการสังเกตของผู้วิจัยพบว่า การปนเปื้อนของตาขมิ้นชันที่เพาะเลี้ยงส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อรา ซึ่งอาจจะเป็นเพราะว่า สปอร์ของราบางชนิดทนทานต่อโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ได้ ทำให้หลงเหลืออยู่กับตาที่ถูกฟอกฆ่าเชื้อ ส่วนแบคทีเรียถูกฆ่าตายหมดเมื่อใช้โซเดียมไฮโปคลอไรด์ความเข้มข้นสูง เมื่อเปรียบเทียบผลระหว่างพันธุ์พบว่า สภาพการปนเปื้อนเชื้อไม่แตกต่างกัน การแก้ปัญหาจึงเป็นไปในทำนองเดียวกัน ดังนั้น การเพาะเลี้ยงตาจากเหง้าขมิ้นชันเพื่อใช้เป็น Explants สำหรับทดลองต่อไป ควรดำเนินการ 2 แนวทางคือ เพาะเลี้ยงตาในอาหารพื้นฐานแล้วคัดเลือกตาที่ไม่ปนเปื้อนไว้ทดลอง หรือ เพิ่มจำนวนต้นจากตาที่ไม่ปนเปื้อนที่คัดเลือกไว้แล้ว ด้วยวิธีการเหล่านี้ทำให้ได้ต้นขมิ้นชันที่มีความสม่ำเสมอทางสัณฐานและสรีระ เมื่อได้มากพอตามต้องการจึงดำเนินการทดลองต่อไป

5.1.2 การศึกษาผลของ BAP ต่อการเกิดหน่อ

จากผลการทดลองตัดตาขมิ้นชันลงเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า BAP สามารถชักนำให้เกิดกลุ่มหน่อจำนวนมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ระดับความเข้มข้น 3.5 มก./ล. เกิดหน่อเฉลี่ยสูงสุด แต่ถ้าความเข้มข้นสูงมีแนวโน้มยับยั้งการเกิดหน่อ ผลการทดลองจึงมีความสอดคล้องกับรายงานของ Balachandran *et al.* (1990) ที่ทดลองนำตาขมิ้นชันลงเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 3.0 มก./ล. ทำให้เกิดหน่อเฉลี่ยมากที่สุด (3.43) เป็นที่น่าสังเกตว่า ระดับความเข้มข้นของ BAP น้อยจะกระตุ้นให้เกิดหน่อได้น้อย และที่ความเข้มข้นเหมาะสมระดับหนึ่งจะชักนำให้เกิดหน่อได้มากที่สุด แต่ถ้าความเข้มข้นมากเกินไปจะยับยั้งการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงและทำให้ปริมาณหน่อหรือยอดเกิดใหม่ลดลงและอาจจะทำให้เกิดความผิดปกติมากขึ้น (Jafari *et al*., 2011; Venkatachalam *et al*., 2007) เนื่องจากสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มไซโทไคนินจะชักนำให้เกิดการเจริญเติบโตของตาข้าง (Lateral buds) และกระตุ้นแคลลัสให้พัฒนาเป็นต้นพืชได้แต่ต้องอยู่ในระดับที่เหมาะสม ดังรายงานผลการทดลองในถั่วพุ่ม (Tie *et al*., 2013; Tang *et al*., 2012; Raveendar *et al*., 2009) กล้วยเล็บมือนางและกล้วยสา (Koarapatchaikol and Kanchanapoom, 2010) ยาสูบ (Murashige and Skoog, 1962) ข้าว (Ramesh *et al*., 2009) และ หม่อน (Anis *et al*., 2003) เมื่อเปรียบเทียบผลของ BAP ต่อการเกิดหน่อของขมิ้นชันระหว่างแหล่งตัวอย่างทดลอง พบว่ามีแนวโน้มไปในทำนองเดียวกัน ดังนั้น เพื่อป้องกันปัญหาความผิดปกติที่เกิดขึ้นจากความเข้มข้นของ BAP ที่สูงเกินไป สำหรับการขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มจำนวนหน่อของขมิ้นชันในหลอดทดลองควรเลือกใช้ BAP ที่ความเข้มข้น 3.5 มก./ล.

5.2 การศึกษาการสร้างแคลลัสของขมิ้นชัน

5.2.1 การชักนำแคลลัสจากเหง้าแก่ด้วย 2, 4-D

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า 2, 4-D ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสจากตาของเหง้าแก่ขมิ้นชันจากบ้านตาขุนและจากท่าชนะได้ ซึ่งโดยปกติ 2, 4-D เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการชักนำแคลลัส (Borjian and Arak, 2013) แต่การทดลองนี้อาจจะมีสาเหตุหลายประการ เช่น ส่วนประกอบของอาหาร สภาวะเพาะเลี้ยง และชนิดของเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง โดยมีรายงานของ Tsay and Tseng (1979) ที่สนับสนุนว่า 2,4-D ที่ความเข้มข้นสูงยับยั้งการเกิดแคลลัสของมันฝรั่ง เช่นเดียวกับ Koarapatchaikol (2012) ที่รายงานว่า 2, 4-D ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสจากใบของย่านาง (*Tiliacora triandra* Diels.) ได้ นอกจากยับยั้งการเกิดแคลลัสแล้วยังพบว่ามันชักนำให้เกิดแคลลัสขนาดเล็กคุณภาพต่ำในพืชบางชนิดที่พัฒนาไปเป็นต้นไม่ได้ในฝ้าย (Abdellatef and Khalafallah, 2008) สาเหตุหนึ่งน่าจะมาจากสารชนิดนี้มีความเป็นพิษสูง เพราะมีคุณสมบัติเป็นสารกำจัดวัชพืชใบแคบ หากใช้ในความเข้มข้นสูงกับพืชบางชนิดจะทำให้เนื้อเยื่อพืชตายได้

5.2.2 การชักนำแคลลัสจากหน่อ

อย่างไรก็ตาม ผลการชักนำแคลลัสจากตาของหน่อขมิ้นชันพบว่า 2, 4-D สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสจากส่วนของตาที่ติดกับฐานของกาบใบและเหง้าอ่อนได้ดีในทุกระดับความเข้มข้น แต่มีแคลลัสเกิดน้อยหรือไม่เกิดขึ้นเลยในอาหารบางสูตรจากชิ้นส่วนใบ ซึ่งผลที่เกิดขึ้นสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Saensouk (2011) ที่เพาะเลี้ยงกาบใบอ่อนของว่านเปราะทอง (*Cornukaempferia aurantiflora* Mood & Larsen) สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D ซึ่งการชักนำให้เกิดแคลลัสหรือโซมาติกเอ็มบริโอจากส่วนที่ยังอ่อนทำได้ง่ายและเป็นที่นิยมในพืชหลากหลายชนิด เช่น ปาล์มน้ำมัน (Te-Chato *et al*., 2002) มังคุด (Rineksane *et al*., 2012) หอม (Nagasawa and Finer, 1988) ข้าว (Ramesh *et al*., 2009) เป็นต้น เหตุผลสำคัญน่าจะมาจากแคลลัสของขมิ้นชันเกิดจากเซลล์ที่ยังอ่อนอยู่บริเวณฐานของกาบใบหรือเซลล์จากเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดของตาเพราะส่วนที่ยังอ่อนประกอบด้วยเซลล์ที่ยังสามารถแบ่งเซลล์และพัฒนาเปลี่ยนแปลงเป็นต้นพืชใหม่ได้ง่าย (Development and Dedifferentiation) ซึ่งเป็นไปตามหลักการของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ว่าเนื้อเยื่อที่ยังอ่อนอยู่จะมีศักยภาพ (Totipotency) ในการแบ่งเซลล์และพัฒนาเป็นต้นใหม่ได้ง่ายกว่าเซลล์ที่อายุมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เซลล์ที่โตเต็มที่แล้วจะสูญเสียความสามารถในการแบ่งเซลล์และการพัฒนากลับไปเป็นต้นพืชอย่างรวดเร็ว (Wernicke and Brettell, 1980) อย่างไรก็ตามแคลลัสขมิ้นชันจากทั้งสองแหล่งตัวอย่างที่เกิดขึ้นจากการชักนำด้วย 2,4 –D ไม่สามารถชักนำให้เกิดต้นขมิ้นชันได้ ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่า

แคลลัสที่เกิดขึ้นมีคุณภาพไม่ดีพอที่จะพัฒนาไปเป็นต้นพืช ซึ่งอาจจะเป็นไปตามผลการค้นพบก่อนหน้านี้ว่า การเติมออกซินผสมร่วมกับไซโทไคนินในอาหารชักนำแคลลัสด้วยจะทำให้เกิดแคลลัสที่สามารถพัฒนาเป็นต้นพืชได้ (Borjian and Arak, 2013; Koarapatchaikol and Kanchanapoom, 2010)

5.2.3 การชักนำแคลลัสจากหน่อด้วย NAA

ความสามารถในการชักนำให้เกิดแคลลัสที่เด่นชัดเกิดจากการชักนำด้วย NAA จากตาของหน่อโดยพบว่าเกิดแคลลัสหลากหลายแบบแปรผันตามความเข้มข้นของ NAA หรือ NAA ร่วมกับ BAP โดยที่แคลลัสสีน้ำตาลอ่อนเนื้อแน่นสามารถพัฒนาไปเป็นต้นขมิ้นชันได้ทั้งสองพันธุ์ ผลการทดลองใน NAA จึงแตกต่างจากผลของ 2, 4-D อย่างชัดเจน แสดงให้เห็นว่าชนิดของออกซินมีอิทธิพลในการชักนำแคลลัสชนิดเอ็มบริโอเจนนิกแคลลัส (Embryogenic callus) ที่จะพัฒนาไปเป็นต้นขมิ้นชัน ซึ่งก็ไม่แตกต่างจากพืชชนิดอื่นอีกหลายชนิดที่พบว่า NAA ชักนำแคลลัสที่มีความสามารถในการพัฒนาเป็นต้นใหม่ได้ดีกว่า 2, 4-D ถึงแม้ว่าออกซินจะมีบทบาทสำคัญในการชักนำแคลลัสของพืช แต่พืชแต่ละชนิดจะตอบสนองต่อออกซินแต่ละชนิดต่างกัน ในพวกธัญพืชส่วนใหญ่พบว่า 2, 4-D มีความสามารถในการชักนำแคลลัสได้ดีกว่า NAA ยกเว้น ในข้าวและข้าวฟ่างถ้าเติม BAP ลงไปร่วมกับ 2, 4-D จะทำให้เกิดแคลลัสได้ดีกว่า (Eapen and George, 1990; Jabeen and Siriwardana, 1987) แต่ในขมิ้นชันจากท่าชนะและจากบ้านตาขุนกลับพบว่า NAA หรือ NAA ร่วมกับ BAP ความเข้มข้นต่ำๆ ชักนำแคลลัสได้ดีกว่า 2, 4-D รวมทั้งแคลลัสชนิดเอ็มบริโอเจนนิกแคลลัสเกิดขึ้นจากส่วนของตาที่ได้จากหน่อในแปลงไม่ใช่ตาจากเหง้าขมิ้นชัน แสดงให้เห็นว่า ชนิดของชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงก็มีบทบาทสำคัญในการชักนำให้เกิดแคลลัสไม่ใช่สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชเพียงอย่างเดียว

5.3 การชักนำให้เกิดต้นจากแคลลัส

ผลการศึกษาการเกิดต้นจากแคลลัสขมิ้นชันทั้งสองแหล่งตัวอย่าง พบว่าแคลลัสที่เกิดจากการชักนำด้วย 2,4-D ไม่สามารถชักนำให้เกิดต้นในอาหารที่เติม NAA ร่วมกับ BAP ได้ แม้ว่าจะเป็นแคลลัสขนาดใหญ่และเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ตรงกันข้ามแคลลัสสีน้ำตาลอ่อนที่เกิดขึ้นในอาหารสูตรที่เติม NAA อย่างเดียวหรือร่วมกับ BAP ความเข้มข้นต่ำๆ สามารถพัฒนาเป็นต้นขมิ้นชันได้บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้นต่ำร่วมกับ BAP ความเข้มข้นสูงกว่า ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสัดส่วนของ NAA ต่อ BAP มีความสำคัญ เพราะถ้าหาก NAA มีความเข้มข้นสูงกว่า BAP จะเจริญเป็นแคลลัสต่อไป จากการศึกษาการพัฒนาเป็นต้นพืชจากแคลลัสส่วนใหญ่ต้องอาศัยไซโทไคนินเป็นสำคัญ หรือไซโทไคนินร่วมกับออกซินโดยต้องมีไซโทไคนินความเข้มข้นสูงกว่า

ออกซิน ออกซินที่ใช้ได้ผลดีได้แก่ NAA, IAA หรือ IBA (Anis, *et al*. 2003; Borjian and Arak, 2013) ตัวอย่างเช่นการชักนำให้แคลลัสของข้าวฟ่างเกิดต้นได้ดีต้องใช้อาหารสูตร MS ที่เติม NAA ร่วมกับ Kinetin (Anjaneyulu *et al*., 2011) ส่วนในกล้วยหอมทองพบว่า NAA ร่วมกับ BAP จะชักนำให้เกิดต้นได้ (Srangsam and Kanchanapoom, 2003)

5.4 การชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์

จากผลการทดลองจะเห็นว่า กลุ่มตาขมิ้นชันที่แช่ในอาหารเหลวที่มีออริซาลินถูกชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์ได้ โดยพิจารณาได้จากขนาดเซลล์คุมและเซลล์ผิวใบ รวมทั้งการเปรียบเทียบปริมาณปากใบในพื้นที่เท่ากัน ถ้าต้นใดมีขนาดเซลล์คุมหรือเซลล์ผิวขนาดใหญ่กว่าชุดควบคุมแสดงว่าเป็นพอลิพลอยด์ ในทำนองเดียวกันถ้าจำนวนปากใบต่อพื้นที่น้อยกว่าชุดควบคุมแสดงว่าเป็นพอลิพลอยด์เช่นกัน (Masterson, 1994; Kanchanapoom and Korapatchaikul, 2012) โดยพบว่าในชุดที่แช่ออริซาลินในเวลาเหมาะสมมีต้นพอลิพลอยด์เกิดขึ้น สาเหตุเพราะออริซาลินเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้เซลล์เจริญ (Meristematic cell) เพิ่มชุดโครโมโซมขึ้น เมื่อเซลล์เหล่านี้พัฒนาเป็นต้นพืชจึงมีโครโมโซมมากกว่าต้นแม่ 2 เท่าขึ้นไป ขึ้นอยู่กับระยะเวลาแช่ในสารออริซาลิน จึงทำให้เกิดต้นพอลิพลอยด์ได้หลายแบบ เช่น เตตระพลอยด์ (Tetraploid, 2n=4x) ออกตะพลอยด์ (Octaploid, 2n=8x) เป็นต้น อย่างไรก็ตาม Nadler (2009) อธิบายว่า การเกิดพอลิพลอยด์แบบใดขึ้นอยู่กับระยะเวลาแช่ในสารเพิ่มชุดโครโมโซม ถ้าแช่นานจะเกิดออกตะพลอยด์ หรือสูงกว่า แต่ถ้าแช่ระยะเวลาสั้น (1-2 วันหรือน้อยกว่า) อาจจะไม่เกิดหรือเกิดเตตระพลอยด์เท่านั้น นอกจากนี้การแช่นานอาจจะเกิดต้นพอลิพลอยด์ที่มีเซลล์หลายระดับชุดโครโมโซมปะปนกัน หรือที่เรียกว่า มิกโซพลอยด์ (Mixoploid, 2n=4x+2x) จำนวนมาก ซึ่งต้นมิกโซพลอยด์จะมีความเสถียรต่ำและอาจจะเปลี่ยนกลับไปเป็นดิพลอยด์ในรุ่นลูกหรือรุ่นหลาน (Koarapatchaikol, 2007) ถึงแม้ว่าออริซาลินจะมีพิษน้อยกว่าโคลชิซิน (Sri Ramulu *et al*., 1991) แต่มันยังมีผลลดอัตราการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชอย่างชัดเจนดังที่พบในการศึกษากับแคลลัสกล้วยเล็บมือนางและกล้วยสา (Koarapatchaikol, 2007) ผลเสียต่อเนื้อเยื่อเพาะเลี้ยงของออริซาลินแทบจะไม่แตกต่างจากโคลชิซินมากนัก จะเห็นได้จากรายงานผลการใช้โคลชิซินชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์ของขมิ้นชัน clone C12AC และ C11AG (Duangnet, 2006) สาเหตุมาจากมันไปขัดขวางกระบวนการแบ่งเซลล์ จึงทำให้เซลล์เนื้อเยื่อเจริญไม่สามารถแบ่งเซลล์ต่อไปได้ ถ้าได้รับในปริมาณมากและเป็นเวลานานจะส่งผลกระทบอย่างรุนแรงต่ออัตราการเจริญเติบโตของพืช ผลการทดลองนี้จึงสอดคล้องกับรายงานผลการวิจัยของ Kanchanapoom and Korapatchaikul (2012) ที่ใช้ออริซาลินชักนำต้นพอลิพลอยด์จากแคลลัสของกล้วยเล็บมือนางและกล้วยสาได้สำเร็จ และพบว่าออริซาลินที่ความเข้มข้นสูงและ

ระยะเวลาแช่นานส่งผลให้แคลลัสตายจำนวนมาก รวมทั้งลดอัตราการเกิด Organogenesis อย่างชัดเจน อีกทั้งยังมีรายงานวิจัยในพืชชนิดอื่นๆ สนับสนุนผลการทดลองนี้อีกเป็นจำนวนมาก (Thao *et al*., 2003; Ganga *et al*., 2002 ; Van Duran *et al*., 1996; Sri Ramulu *et al*., 1991)

จากผลการทดลองในขมิ้นชันจากบ้านตาขุนและจากท่าชนะสามารถสรุปได้ว่า พบต้นพอลิพลอยด์เพียงแบบเดียวเท่านั้น ซึ่งสังเกตได้จากผลการวินิจฉัยขนาดเซลล์คุมและปริมาณปากใบต่อพื้นที่เท่ากัน พบขนาดเซลล์คุมแตกต่างจากชุดควบคุมเพียงระดับเดียวเท่านั้น ซึ่ง Masterson (1994) ได้ชี้ว่า ขนาดของเซลล์คุมและความหนาแน่นของปากใบมีความสัมพันธ์กับระดับชุดโครโมโซมของเซลล์อย่างชัดเจน โดยถ้าขนาดเซลล์คุมโตแสดงว่าระดับชุดโครโมโซมมากด้วย ตรงกันข้ามถ้าความหนาแน่นของปากใบมากแสดงว่าระดับชุดโครโมโซมน้อย ในกรณีการทดลองนี้ไม่พบความแตกต่างจากชุดควบคุมหลายระดับ ทำให้เชื่อได้ว่ามีพอลิพลอยด์เพียงแบบเดียวเท่านั้น ซึ่งอาจจะมีสาเหตุจากการแช่ในออริซาลินนานเกินไป (120 ชม.) ร่วมกับความเข้มข้นสูง (3.0 มก./ล.) ทำให้ชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงตายหรือไม่สามารถเกิดออกาโนจินีซิสได้ จึงไม่พบต้นที่มีระดับชุดโครโมโซมสูงๆ กรณีแบบนี้สอดคล้องกับผลการทดลองในกล้วยสาและกล้วยเล็บมือนาง (Karnchanapoom and Koarapatchaikol, 2012) และเป็นไปในทำนองเดียวกันกับการทดลองใน *Cercis yunnanensis* Hu et Cheng (Nadler, 2009) ที่ต้องใช้เวลาในการแช่ในออริซาลินนานมาก (96 ชม. หรือ มากกว่า) จึงเกิดต้นออกตะพลอยด์ เมื่อสังเกตลักษณะของต้นออกตะพลอยด์ (2n=8x=88) ของกล้วยไข่ พบว่ามีลำต้นเตี้ย ขนาดเล็ก และเจริญเติบโตช้าผิดแปลกไปจากต้น ดิพลอยด์เป็นอย่างมาก (Silayoi, 2000; Saradhuldhat and Silayoi, 2001) ปรากฏการณ์ดังกล่าวมีลักษณะคล้ายคลึงกับต้นพอลิพลอยด์ของขมิ้นชันทั้งสองแหล่งที่มีขนาดเล็กและเจริญเติบโตช้า แตกต่างจากต้นเตตระพลอยด์ที่พบในกล้วยเล็บมือนาง (Kanchanapoom and Korapatchaikul, 2012) ซึ่งอาจจะมีสาเหตุมาจากขมิ้นชันมีโครโมโซมจำนวนมาก (2n=63) ซึ่งถูก สันนิฐานว่าเป็นตริพลอยด์ (2n=3x=63) (Leong-Skornickova *et al*., 2007) ดังนั้นเมื่อทำการชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์จึงมีโครโมโซมมากถึงระดับเฮกซาพลอยด์ (Hexaploid, 2n=6x=126) หรือมากกว่า

จากการศึกษาการเจริญเติบโตและพัฒนาการของต้นพอลิพลอยด์พบว่า มีใบและต้นขนาดเล็กกว่าต้นดิพลอยด์อย่างชัดเจน การที่ต้นพอลิพลอยด์มีลักษณะทางสัณฐานเล็กอาจจะส่งผลโดยตรงให้ผลผลิตต่อไร่ของเหง้าขมิ้นชันน้อยลงด้วย แต่ต้นพอลิพลอยด์ดังกล่าวอาจจะมีประโยชน์ในการแก้ปัญหากระบวนการปรับปรุงพันธุ์ขมิ้นชันได้ เพราะพืชบางชนิดที่เพิ่มชุดโครโมโซมแล้วละอองเรณูมีความมีชีวิต (Fertility) เพิ่มขึ้น (Zeinab *et al*., 2012; Chatthan and Raghuvanshi, 1978) แต่ต้องศึกษาการเจริญเติบโต และความมีชีวิตของละอองเรณูของต้นพอลิพลอยด์ว่าดีกว่าต้นดิพลอยด์หรือไม่ต่อไป ถ้าความมีชีวิตมากกว่าต้นพอลิพลอยด์ดังกล่าวจะมีประโยชน์ใน

กระบวนการปรับปรุงพันธุ์ขมิ้นชันจากต้นดิพลอยด์และเตตระพลอยด์เพื่อสร้างต้นตริพลอยด์ (2n=3x=189) ที่มีประโยชน์ในการเพิ่มผลผลิตเช่นเดียวกับพืชอื่นๆ หลายชนิดในอนาคตได้

5.5 การชักนำราก (Root induction)

จากผลการทดลองพบว่า ต้นกล้าขมิ้นชันที่เกิดขึ้นมีลักษณะเหมือนพืชที่มีลำต้นใต้ดินหรือเหง้าทั่วไป กล่าวคือ สามารถเกิดรากได้เองในอาหารที่ชักนำให้เกิดต้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าในอาหารมีออกซิน เช่น NAA หรือ IBA รวมอยู่ด้วย (Srangsam and Karnchanapoom, 2010) แต่การเกิดรากได้เองของขมิ้นชันมีจุดอ่อนที่ต้องเสียเวลานาน การใช้ออกซินเติมลงในอาหารชักนำรากจะช่วยให้เกิดรากเร็วและปริมาณมาก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Rahman *et al*. (2004) ที่รายงานว่าออกซินหลายชนิด (NAA, IBA, IAA) ความเข้มข้น 0.1-1.0 มก./ล. ชักนำให้หน่อขมิ้นชันเกิดรากที่รวดเร็วและแข็งแรงดี นอกจากนี้ วิธีการชักนำรากในหลอดทดลองโดยเก็บที่มืดระยะเวลาหนึ่งก่อนย้ายมาเลี้ยงในที่มีแสงจะชักนำให้เกิดรากได้ดีกว่าการชักนำรากในที่มีแสง ดังที่พบใน *Cercis yunnanensis* Hu et Cheng. (Cheong and Pooler, 2003) หรือการใส่ผงถ่านลงในอาหารเพาะเลี้ยงก็สามารถช่วยให้เกิดรากที่มีคุณภาพดีขึ้นได้ (Sharma *et al.*, 2007) ผลการทดลองนี้จึงสอดคล้องกับรายงานเกี่ยวกับผงถ่านที่รายงานไว้ก่อนหน้านี้

5.6 สรุปผล

5.6.1 การฟอกฆ่าเชื้อที่ปนเปื้อนชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงของขมิ้นชันควรใช้โซเดียมไฮโปคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 10% เป็นเวลา 20 นาที และตามด้วย 5% นาน 10 นาที จะได้ผลดีและเหมาะสมที่สุด แม้ว่าจะมีบางชิ้นส่วนยังคงปนเปื้อนอยู่ แต่เปอร์เซ็นต์รอดตายจะสูง

5.6.2 อาหารสูตร MS ที่เติม BAP 3.5 มก./ล. ใช้เพาะเลี้ยงตายอดขมิ้นชันที่ผ่านการเพาะเลี้ยงปรับสภาพทางสรีระแล้วได้ผลดีที่สุด เพราะสามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยสูงสุด

5.6.3 การชักนำแคลลัสจากตาของเหง้าโดยใช้ 2, 4-D ไม่สามารถทำให้เกิดแคลลัสได้ แต่ถ้าใช้ตาจากหน่อที่เพาะได้จากกระบะเพาะกล้า สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสที่เจริญเติบโตเร็วแต่ไม่สามารถชักนำให้พัฒนาเป็นต้นได้

5.6.4 NAA สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสที่มีคุณภาพดีจากตาของหน่อขมิ้นชันทั้งสองแหล่งปลูกในอาหารสูตร MMS และพัฒนาเป็นต้นขมิ้นชันได้ เมื่อย้ายแคลลัสสีน้ำตาลอ่อนเนื้อแน่นไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MMS ที่เติม NAA ต่ำๆ ร่วมกับ BAP ความเข้มข้นสูงกว่า

5.6.5 ต้นขมิ้นชันที่เกิดขึ้นในหลอดทดลองไม่ว่าเกิดจากตายอดหรือจากแคลลัสสามารถเกิดรากได้เองบางส่วนโดยไม่ต้องใส่ออกซิน แต่การเติม NAA เล็กน้อยหรือผงถ่านลงใน

อาหารชักนำรากจะส่งเสริมให้เกิดรากคุณภาพดี มีรากฝอยจำนวนมาก ทำให้สามารถอนุบาลและย้ายปลูกง่ายและมีอัตรารอดตายสูง

5.6.6 การชักนำพอลิพลอยด์โดยการแช่แคลลัสในออริซาลินความเข้มข้น 3.0 มก./ล. ทำให้แคลลัสตายจำนวนมากไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นได้ แตกต่างจากการชักนำพอลิพลอยด์จากตาของหน่อพบว่าหลังจากแช่ในออริซาลินแล้วย้ายเลี้ยงบนอาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมจะมีหน่อเกิดขึ้น โดยจำนวนหน่อจะมีปริมาณสัมพันธ์กับระยะเวลาที่แช่ในออริซาลินอย่างชัดเจน กล่าวคือยิ่งแช่นานหน่อจะเกิดขึ้นน้อยลง

5.6.7 จากการเปรียบเทียบขนาดเซลล์คุมและปริมาณปากใบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า ระหว่างชุดควบคุมกับชุดทดลอง พบว่ามีต้นพอลิพลอยด์เกิดขึ้นในชุดที่ผ่านการแช่ในออริซาลินนาน 48, 72 ชั่วโมง เพราะมีขนาดเซลล์คุมใหญ่กว่าชุดควบคุม และปริมาณปากใบในพื้นที่ศึกษาน้อยกว่าชุดควบคุมอย่างชัดเจน

5.6.8 ต้นขมิ้นชันที่เป็นพอลิพลอยด์ที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อสามารถย้ายปลูกลงกระถางดินได้สำเร็จ โดยต้นโพลิพลอยด์มีการเจริญช้ากว่าปกติ มีขนาดเล็ก ใบสั้น หนา และแตกกอน้อย

5.7 ข้อเสนอแนะ

5.7.1 ควรมีการศึกษาฤดูกาลเก็บตัวอย่างเหง้าขมิ้นชันที่นำมาทดลอง เพราะชิ้นส่วนที่นำมาศึกษาเป็นส่วนของลำต้นใต้ดินทำให้มีการปนเปื้อนสูง รวมทั้งศึกษาสารฆ่าเชื้อชนิดอื่นๆ และหาวิธีการใหม่ๆ ในกำจัดเชื้อจากชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงกลุ่มพืชที่มีลำต้นใต้ดิน

5.7.2 ควรมีการศึกษาสารเพิ่มชุดโครโมโซมชนิดอื่น เพื่อชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์ เพื่อประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ขมิ้นชัน เพราะการปรับปรุงพันธุ์ขมิ้นชัน ในปัจจุบันยังมีการศึกษาน้อยมาก

5.7.3 ควรมีการศึกษาการเกิดพอลิพลอยด์ของขมิ้นชันหลายๆ แหล่งปลูก เนื่องจากแต่ละแหล่งมีลักษณะบางประการแตกต่างกัน เมื่อชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์อาจจะมีลักษณะทางพันธุกรรมแตกต่างกัน จะเกิดประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ขมิ้นชันให้มีผลผลิตเพิ่มขึ้น และเกิดผลในการใช้เป็นพันธุ์ปลูกเชิงพาณิชย์ต่อไป

5.7.4 ควรศึกษาการปรับปรุงพันธุ์ขมิ้นชันโดยใช้เทคนิคหลอมรวมเซลล์ไร้ผนัง (Protoplast fusion) เพราะทำให้เกิดลูกผสมที่รวดเร็วกว่าวิธีการผสมโดยการถ่ายเทละอองเรณู

5.7.5 ควรศึกษาการเพาะเลี้ยงอับเรณู (Anther culture) ของขมิ้นชันเพื่อศึกษาผลผลิตจากการสร้างต้นดิพลอยด์พันธุ์แท้ (Homozygous plant)

5.7.6 ควรศึกษาการเจริญเติบโตและผลผลิตของขมิ้นชันที่เป็นพอลิพลอยด์ในแปลงปลูกจริง เพื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์อื่นๆ ที่เกษตรกรปลูกในท้องถิ่น

เอกสารอ้างอิง

เอกสารอ้างอิง

กรณ์ กรภัทร์ชัยกุล. (2557). **การชักนำให้พืชสมุนไพร "ย่านาง" เกิดยอดจำนวนมากในหลอดทดลอง.** การประชุมทางวิชาการพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 8, 2-4 เมษายน 2557 ณ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, จังหวัดเชียงใหม่.

กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2556). **ข้อมูลพืช กรมวิชาการเกษตร.** http://203.172.198.146/rice/rice_mix2/index.html [เข้าถึงเมื่อวันที่ 10 กันยายน 2557].

กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2544). **ผลงานวิชาการประจำปี 2543**. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, กรุงเทพฯ.

ชูลีรัตน์ คงเรือง และ อนุวัต สงสม. (2547). **การผลิตและการตลาดขมิ้นชันและผลิตภัณฑ์ใน ตำบลลานข่อย อำเภอป่าพะยอม จังหวัดพัทลุง.** รายงานวิจัยทุนอุดหนุนการวิจัยงบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2547, มหาวิทยาลัยทักษิณ.

ธนภร อำนวยกิจ. (2009). **เวชสำอาง.** *Thai Pharmaceutical and Health Science Journal*, 4: 94-110.

ภาณุทรรศน์. (2544). **ขมิ้นยอดสมุนไพรโบราณ.** พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์น้ำฝน, กรุงเทพฯ.

นันทวรรณ ฉิมพลี. (2549). **การจำแนกสายพันธุ์ขมิ้นชันในประเทศไทยโดยใช้ Microsatellite markers**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิจศิริ เรืองรังษี. (2534). **เครื่องเทศ.** พิมพ์ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ.

บัญญัติ สุขศรีงาม. (2538). **ขมิ้น**.*วารสารใกล้หมอ,* 9: 9-10.

บุญหงษ์ จงคิด, ปัทมา ตาไล และทิพวรรณ หอมไม่วาย. (2552). **การปรับปรุงพันธุ์ขมิ้นชันเพื่อเพิ่มผลผลิตและคุณภาพ.** *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี,* 1: 96-107.

มะลิวรรณ จุรุทา และพรพิมล สุริยภัทร. (2551). **การเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยาระหว่างปทุมมาลูกผสมดิพลอยด์กับเททระพลอยด์.** *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*, 39(3) (พิเศษ) : 120-123.

รุ่งรัตน์ เหลืองนทีเทพ. (2540). **พืชเครื่องเทศและสมุนไพร**. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

รัชฎาพร ไทยเกิด. (2550). **ความหลากหลายทางพันธุกรรมและสารสำคัญบางชนิดของขมิ้นชัน.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท , มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรพินท์ เทพเสน. (2543). **การระบุและจัดหมวดหมู่พืชสกุลขมิ้นโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเรณูวิทยาและเซลล์วิทยา** . วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Abdellatef, E. and Khalafallah, M.M. (2008). **Influence of growth regulators on callus induction from hypocotyls of medium staple cotton (*Gossypium hirsutum* L.) cultivar Barac B -67e.** *Journal of Soil Nature*, 2:17-22.

Anis, M., Faisal, M. and Singh, S.K. (2003). **Micropropagation of mulberry (*Morus alba* L.) through *in vitro* culture of shoot tip and nodal explants**. *Plant Tissue Culture*, 13: 47-51.

Anjaneyulu, E., Hemalatha, S., Bharath Raj, S. and Balaji, M. (2011). **Callus induction and plant regeneration in Finger Millet (*Eleusine coracana* L.).** *Libyan Agriculture Research Center Journal International*, 2: 57-61.

Badoni, A. and Chauhan, J.S. (2010). ***In vitro* sterilization protocol for micropropagation of *Solanum tuberosum* cv. 'Kufri Himalini'**. *Academia Arena*, 2: 24-27.

Balachandran, S.M., Bhat, S.R. and Chandel, K.P.S. (1990**). *In vitro* clonal multiplication of turmeric (*Curcuma* spp.) and ginger (*Zingiber officinale* Rosc.)**. *Plant Cell Reports*, 8: 521-524.

Borjian, L. and Arak, H. (2013). **A study on the effect of different concentration of plant hormones (BAP, NAA, 2, 4-D, and Kinetin) on callus induction in *Brassica napus*.** *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*, 5: 519-521.

Chang, B.K.W. and Criley, R.A. (1993). **Clonal propagation of pink ginger *in vitro*.** *HortScience*, 28: 1203.

Chatthan, A.K.S. and Raghuvanshi, S.S. (1978). **Cytomorphological studies of artificially induced tetraploids of *Catharanthus pusillus*.** *Phyton* (Austria), 18: 217-219.

Cheong, E. and Pooler, M.R**.** (2003). **Micropropagation of Chinese redbud (*Cercis yunnanensis*) through axillary bud breaking and induction of adventitious shoots from leaf pieces.** *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant* , 39:455-458.

Duangnet, J. (2006). **Mutational breeding of *Curcuma longa* for medicinal purpose using colchicines and gamma rays.** A thesis submitted for the degree of Master of Science, Faculty of Graduate studies, Mahidol University.

Eapen, S. and George, L. (1990). **Influence of phytohormones, carbohydrates, amino acids, growth supplements and antibiotics on somatic embryogenesis and plant differentiation in finger millet.** *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 22: 87-93.

Eeckhaut, T., G. Samyn and Van Bockstaele, E. (2001). ***In vitro*** **polyploidy induction in rhododendron simsii hybrids.** *Med. Fac. Landbouww*, 66: 451-454.

Eksomtramage, L., Sirirugsa, P. and Mayakul, S. (1996a). **Chromosome numbers of some Thai zingiberaceae.** *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 18: 153-159.

Ganga, M and Chezhiyan, N. (2002). **Influence of the antimitotic agents colchicine and oryzalin on *in vitro* regeneration and chromosome doubling of diploid bananas (*Musa* spp.).** *Journal of Horticultural Science Biotechnology*, 77: 572-575.

Hansen, N.J.P. and Andersen, S.B. (1996). ***In vitro*** **chromosome doubling potential of colchicine, oryzalin, trifluralin and APM in *Brassica napus* microspore culture**. Euphytica, 88, 159-164.Heursel J., and De Roo R., 1981. Polyploidy in evergreen azaleas. *HortScience*, 16: 765-766.

Islam, M.A., K. Kloppstech and Jacobsen, H.J. (2004). **Efficient procedure for in vitro microrhizome induction in *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae) – A medicinal plant of tropical Asia.** *Plant Tissue Culture & Biotechnology*, 14: 123-134.

Jabeen, M. and Siriwardana, S. (1987). **Selection for salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.).** *Mod. Trends. Pl. Sci. Res. Pak*., 164-169.

Jafari, N., Othman, R.Y. and Khalid, N. (2011). **Effect of benzylaminopurine (BAP) pulsing on *in vitro* shoot multiplication of *Musa acuminata* (banana) cv. Berangan.** *African Journal of Biotechnology*, 10: 2446-2450.

Kanchanapoom, K. and Korapatchaikul, K. (2012). ***In vitro*** **induction of tetraploid plants from callus cultures of diploid bananas (*Musa acuminata* , AA group) 'Kluai Leb Mu Nang' and 'Kluai Sa'**. *Euphytica*, 183: 111-117.

Korn, K. (2007). **Polyploidy plant production *via* shoot bud-derived callus of diploid banana (*Musa* spp.) by oryzalin.** A thesis submitted for Ph.D. program, Graduate school, Prince of Songkla University.

Leong-Skornickova, J., Otakar, S., Arolimova, V., Sabu, M., T., Paveltravnicek and Suda, J. (2007). **Chromosome numbers and genome size variation in Indian species of *Curcuma* (Zingiberaceae).** *Annals of Botany*, 100: 505–526.

Lloyd, G. and McCown, B. (1981). **Commercially feasible micropropagation of Mountain Laurel, *Kalmia latifolia* by use of shoot tip culture.** *Combined Proceedings International Plant Propagator's Society*, 30: 421-427.

Maina, S.M., Emongor, Q., Sharma, K.K., Gichuki, S.T., Badoni, A. and Chauhan, J.S. (2010). ***In vitro* sterilization protocol for micropropagation of *Solanum tuberosum* cv. 'Kufri Himalini'**. *Academia Arena*, 2: 24-27.

Masterson, J. (1994). **Stomatal size in fossil plants: evidence for polyploidy in majority of angiosperms.** *Science*, 264:421-423.

Misra, SK. and Sahu, K.C. (1977). **Screening of some indigenous plants for antifungal activity against dermatophytes.** *Indian Journal of Pharmacology*, 9: 269-272.

Mukhri, T. and Yamaguchi, H. (1986). ***In vitro* plant multiplication from rhizomes of turmeric (*Curcuma domestica* Val.) and Ternoe Lawak (*C. xanthorhiza* Roxb.).** *Plant tissue culture letters*, 3: 28-30.

Murashige, T. and Skoog, F. (1962). **A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures.** *Physiologia Plantarum*, 15: 473-497.

Nadler, J.D. (2009). ***In vitro* induction of polyploidy in *Cercis yunnanensis* Hu et Cheng.** Thesis submitted to the Faculty of the Graduate School of the University of Maryland, College Park, in partial fulfillment of the requirements for the degree of Masters of Science.

Nagasawa, A. and Finer, J.J. (1988). **Induction of morphogenic callus cultures from leaf tissue of garlic.** *HortScience*, 23: 1068-1070.

Nair, R.R. and Sasikumar, B. (2009). **Chromosome number variation among germplasm collections and seedling progenies in turmeric, *Curcuma longa* L.,** *Cytologia,* 74: 153-157.

Nasirujjaman, K, Uddin, M.S., Zaman, S. and Reza, M.A. (2005). **Micropropagation of turmeric (*Curcuma longa* Linn.) through *in vitro* rhizome bud culture.** *Journal of Biological Sciences*, 5: 490-492.

Nayak, S. and Naik, P.K. (2006). **Factors affecting in vitro microrhizome formation and growth in *Curcuma longa* L. and improved field performance of micropropagated plants**. *ScienceAsia*, 32: 31-37.

Naz, S., Ilyas, S., Javad, S. and Ali, A. (2009). ***In vitro* clonal multiplication and acclimatization of different varieties of turmeric (*Curcuma longa* L.).** *Pakistan Journal of Botany*, 41: 2807-2816.

Palve, Y.P. and Nayak, P.L. (2012). **Curcumin: A wonder anticancer drug**. *International Journal of Pharmacy and Biomedical Sciences*, 3: 60-69.

Panda, M.K., Mohanty, S., Subudhi, E., Acharya, L. and Nayak, S. (2007). **Assessment of genetic stability of micropropagated plants of *Curcuma longa* by cytophotometry and RAPD analyses.** *International Journal of Integrative Biology*, 1: 189-195.

Rahman, M.M., Amin, M.N., Jahan, H.S. and Ahmed, R. (2004). ***In vitro* regeneration of plantlets of *Curcuma longa* L. a volume spice plant of Bangladesh.** *Asian Journal of Plant Sciences*, 3: 306- 609.

Ramesh, M., Murugiah, V. and. Gupta, A.K. (2009). **Efficient *in vitro* plant regeneration *via* leaf base segments of indica rice (*Oryza sativa* L.).** *Indian Journal of Experimental Biology*, 47: 68-74.

Rao, P.S. and Suprasana, P. (1996). **Methods to double haploid chromosome numbers.** In: Mohan SJ, Sopory SK, Veilleux RE (eds) Current plant science and biotechnology in agriculture: *In vitro* haploid production in higher plants. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 1:317-339.

Rasyid, A. and Lelo, A. (1999). **The effect of curcumin and placebo on human gall-bladder function: an ultrasound study.** *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 13: 245–249.

Raveendar, S., Premkumar, A., Sasikumar, S., Ignacimuthu, S. and Agastian, P. (2009). **Development of a rapid highly efficient system of organogenesis in cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walp.** *South African Journal of Botany*, 75: 17-21.

Rineksane, I.A., Kadir, M.A., Kadzimin, S. and Zaman, F.Q. (2012). ***In vitro* development of embryogenic calli and embryogenic stages in suspension cultures of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.).** *Journal of Medicinal Plants Research*, 6: 2549-2559.

Roberts, A., Lloyd, D. and Short, K. (1990). ***In vitro* procedures for the induction of tetraploidy in a diploid rose.** *Euphytica*, 49: 33–38.

Roopadarshini, V. (2010). **High frequency shoots multiplication and callus regeneration of turmeric.** *International Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 6: 723–733.

Rose, M.S.F. and Brain, K.K. (1977). **An Introduction to Phytopharmacy**. Pithman Medical Publishing Co. Ltd. London.

Saensouk, P. (2011). **Callus induction and plant regeneration from leaf explant of *Cornukaempferia aurantiflora* Mood & Larsen**. *Pakistan Journal of Botany*, 43: 2415-2418.

Saradhuldhat, P. and Silayoi, B. (2001). **Some chemical treatments on Kluai Khai through tissue culture for mutation breeding**. *Kasetsart Journal (Natural Sciences)*, 35: 231-241.

Shamina, A., Zachariah, T.J., Sasikumar, B. and Johnson, K.G. (1998). **Biochemical variation in turmeric (*Curcuma longa*) accessions based on isozyme polymorphism.** *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 73: 479 - 483.

Shao, J., Chen, C. and Deng, X. (2003). ***In vitro* induction of tetraploid in pomegranate (*Punica granatum*).** *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 75: 241-246.

Sharm, O.P. (1976). **Antioxidant activity of curcumin and related compounds.** *Biochemical Pharmacology*, 25: 1811-1812.

Sharma, T., Modgil, M. and Thakur, M. (2007). **Factors affecting induction and development of *in vitro* rooting in apple rootstocks.** *Indian Journal Experimental Biology*, 45: 824-829.

Silayoi, B. (2000). **New Cultivars of Kluai Khai**. Paper presented to the 1st International Banana Exhibition, 5-8 November 2000, Bangkok.

Srangsam, A. and Kanchanapoom, K. (2007). **Establishment of *in vitro* culture of Musa AA Group 'Kluai Sa' and Musa AA group 'Kluai Leb Mue Nang' and the analysis of ploidy stability.** *ScienceAsia*, 33: 437-442.

Srangsam, A. and Kanchanapoom, K. (2003). **Thidiazuron induced plant regeneration in callus culture of triploid banana (*Musa* sp.) 'Gros Michel', AAA group.** *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 25: 689-696.

Sri Ramulu, K., Verhoeven, H.A. and Dijkhuis, P. (1991). **Mitotic blocking, micronucleation, and chromosome doubling by oryzalin, amiprophosmethyl, and colchicines in potato.** *Protoplasma*, 160: 65-73.

Srivastava, K.C., Bordia A. and Verma, S.K. (1995). **Curcumin, a major component of food spice turmeric (*Curcuma longa*) inhibits aggregation and alters eicosanoid metabolism in human blood platelets.** *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 52: 223–227**.**

Tang, Y., Chen, L., Li, X.M., Li, J., Luo, Q., Lai, J. and Li, H.X. (2012). **Effect of culture conditions on the plant regeneration *via* organogenesis from cotyledonary node of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp).** *African Journal of Biotechnology*, 11: 3270-3275.

Taylor, R.A. and Leonard, M.C. (2011). **Curcumin for inflammatory bowel disease: a review of human studies.** *Alternative Medicine* Review, 16: 152-156.

Te-chato, S., Hilae, A. and Yedum, I. (2002). **Improve callus induction and embryogenic callus formation from cultured young leaves of oil palm seedling.** *Thai Journal of Agricultural Science*, 35: 407-13.

Thao, N.T.P., Ureshino, K., Miyajima, I., Ozaki, Y. and Okubo, H. (2003). **Induction of tetraploids in ornamental *Alocasia* through colchicine and oryzalin treatments.** *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 72: 19-25.

Tie, M., Luo, Q., Zhu, Y. and Li, H. (2013). **Effect of 6-BA on the plant regeneration *via* organogenesis from cotyledonary node of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp).** *Journal of Agricultural Science*, 5: 1-5.

Tsay, H. and Tseng, M. (1979). **Embryoid formation and plantlet regeneration from anther callus of sweet potato.** *Botanical Bulletin Academia Sinica*, 20: 117-122.

Vainola, A. (2000). **Polyploidization and early screening of rhododendron hybrids**. *Euphytica*, 112:239-244.

Van Duren, M.V., Morpurgo, R., Dolezel, J. and Afza, R. (1996). **Induction and verification of autotetraploids in diploid banana (*Musa acuminata*) by *in vitro* techniques.** *Euphytica*, 88: 25-34.

Van Tuyl, J.M., Meijer, B. and van Duren, M.P. (1992). **The use of oryzalin as an alternative for colchicine in in vitro chromosome doubling of lilium and nerine.** *Acta Horticulturae*, 325:625-630.

Vaughn, K.C. and Lehnen, L.P. (1991). **Mitotic disrupter herbicides**. *Weed Science*, 39: 450-457.

Venkatachalam, L., Sreedhar, R.V. and Bhagyalakshmi, N. (2007). **Micropropagation in banana using high levels of cytokinins does not involve any genetic changes as revealed by RAPD and ISSR markers.** *Plant Growth Regulation*, 51: 192-205.

Wei Kun-Hua, Miao Jian-Hua, Huang He-Ping and Gao Shan-Lin**.** (2011). **Generation of autotetraploid plant of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) and its quality evaluation.** *Pharmacognosy Magazine*, 7: 200–206.

Wernicke, W. and Brettell, R. (1980). **Somatic embryogenesis from *Sorghum bicolor* leaves**. *Nature*, 287: 138 -139.

Yang, X.M., Cao, Z.Y., An, L.Z., Wang, Y.M. and X.W., Fang. (2006). ***In vitro* tetraploid induction *via* colchicine treatment from diploid somatic embryos in grapevine (*Vitis vinifera* L.).** *Euphytica*, 152: 217-224.

Zaeoung, S., Plubrukarn, A. and Keawpradub, N. (2005). **Cytotoxic and free radical scavenging activities of Zingiberaceous rhizomes.** *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 27: 799-812.

Zapata, E.V., Morales, G.S., Lauzardo, A.N.H., Bonfil, B.M., Tapia, G.T., Sanchez, A.D.J., Valle, M.V.D. and Aparicio A.J. (2003). ***In vitro*** **regeneration and acclimatization of plants of turmeric (*Curcuma longa* L.) in a hydroponic system.** *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 20:25-31.

Zeinab, M., El-Naby, A.b.d. Nabila Mohamed, A. Khalid, H. Radwan and El-Khishin D.A. (2012). **Colchicine induction of polyploidy in Egyptian clover genotypes.** *Journal of American Science*, 8: 221-227.

ภาคผนวก

ภาคผนวก 1

องค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยง

สูตร MS (Murashige and Skoog medium, 1962)

1 ลิตร

1. Macroelements

Ammonium nitrate, NH_4NO_3	1,650 มก.
Potassium nitrate, KNO_3	1,900 มก.
Calcium chloride, $CaCl_2 . 2H_2O$	440 มก.
Potassium dihydrogen phosphate, KH_2PO_4	170 มก.
Magnesium sulfate, $MgSO_4 . 7H_2O$	370 มก.

2. Chelated iron

Disodium ethylene diaminetetraacetate, Na_2-EDTA	37.3 มก.
Ferrous sulfate, $FeSO_4 . 7H_2O$	27.8 มก.

3. Microelements

Boric acid, H_3BO_3	6.2 มก.
Manganese sulfate, $MnSO_4 . 4H_2O$	16.9 มก.
Zinc sulfate, $ZnSO_4 . 7H_2O$	6.14 มก.
Potassium iodide, KI	0.83 มก.
Sodium molybdate, $Na_2MoO_4 . 2H_2O$	0.25 มก.
Copper sulfate, $CuSO_4 . 5H_2O$	0.025 มก.
Cobalt chloride, $CoCl_2 . 6H_2O$	0.025 มก.

4. Growth factor

Myo-inositol	100 มก.

5. Organic addenda

Glycine	2 มก.

6. Vitamins

Thiamine HCl	0.1 มก.
Nicotinic acid	0.5 มก.
Pyridoxin HCl	0.5 มก.

ภาคผนวก 2

องค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยง

สูตร MMS (Modified Murashige and Skoog medium, 1962)

1 ลิตร

1. Macroelements

Ammonium nitrate, NH_4NO_3	1,650 มก.
Potassium nitrate, KNO_3	1,900 มก.
Calcium chloride, $CaCl_2 . 2H_2O$	440 มก.
Potassium dihydrogen phosphate, KH_2PO_4	170 มก.
Magnesium sulfate, $MgSO_4 . 7H_2O$	370 มก.

2. Chelated iron

Disodium ethylene diaminetetraacetate, Na_2-EDTA	37.3 มก.
Ferrous sulfate, $FeSO_4 . 7H_2O$	27.8 มก.

3. Microelements

Boric acid, H_3BO_3	6.2 มก.
Manganese sulfate, $MnSO_4 . 4H_2O$	16.9 มก.
Zinc sulfate, $ZnSO_4 . 7H_2O$	6.14 มก.
Potassium iodide, KI	0.83 มก.
Sodium molybdate, $Na_2MoO_4 . 2H_2O$	0.25 มก.
Copper sulfate, $CuSO_4 . 5H_2O$	0.025 มก.
Cobalt chloride, $CoCl_2 . 6H_2O$	0.025 มก.

4. Growth factor

Myo-inositol	100 มก.

5. Organic addenda

Glycine	2 มก.
Malt extracts	100 มก.
Glutamine	100 มก.

6. Vitamins

Thiamine HCl	0.1 มก.
Nicotinic acid	0.5 มก.
Pyridoxin HCl	0.5 มก.

เกี่ยวกับผู้เขียน

ดร. กรณ์ กรภัทร์ชัยกุล

(นายจำเนียร (อมรวรรธน์) สร้างสาม)

❶ การศึกษา

ปร.ด. (ชีววิทยา)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2550
วท.ม. (วิทยาศาสตร์ชีวภาพ)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2533
กศ.บ. (ชีววิทยา)	มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สงขลา	2525
ปกศ.สูง (วิทยาศาสตร์ทั่วไป)	วิทยาลัยครูสุราษฎร์ธานี	2523

❷ ประสบการณ์

ครูมัธยมศึกษา	2526-2552
หัวหน้าฝ่ายวิชาการ สำนักงานสามัญศึกษาจังหวัดสุราษฎร์ธานี	2535-2537
ศึกษานิเทศก์กรมสามัญศึกษา	2537-2540
พนักงานมหาวิทยาลัย (อาจารย์)	2552-ปัจจุบัน

❸ ผลงานตีพิมพ์เผยแพร่

Srangsam, A. and K. Kanchanapoom. (2003). **Thidiazuron induced plant regeneration in callus culture of triploid banana (*Musa* sp.) 'Gros Michel', AAA group.** *Songklanakarin J. Sci. Technol*., 25: 689-696.

Srangsam, A. and K. Kanchanapoom. (2007). **Establishment of *in vitro* culture of *Musa* AA Group 'Kluai Sa' and *Musa* AA group 'Kluai Leb Mue Nang' and the analysis of ploidy stability.** *ScienceAsia*, 33: 437-442.

Koarapatchaikul, K. and K. Kanchanapoom. (2010). **Plant regeneration from callus cultures of diploid bananas (*Musa acuminata*, AA Group) 'Kluai Sa' and 'Kluai Leb Mu Nang' and analysis of ploidy stability using flow cytometry.** *Tree. For. Sci Biotechnol*. 4:59-63.

Kanchanapoom, K. and **K. Korapatchaikul.** (2012). **Histology of callogenesis in diploid bananas (*Musa acuminata*, AA group) 'Kluai Sa' and 'Kluai Leb Mu Nang'**. *Not. Sci. Biol.*, 4: 94-97.

Kanchanapoom, K. and **K. Korapatchaikul.** (2012). ***In vitro* induction of tetraploid plants from callus cultures of diploid bananas (*Musa acuminata* , AA group) 'Kluai Leb Mu Nang' and 'Kluai Sa'**. *Euphytica* , 183: 111-117.

มัลลิกา แก้วชลคราม และ **กรณ์ กรภัทร์ชัยกุล.** (2554). **การพัฒนาหนังสืออ่านเพิ่มเติม เรื่อง "ทัศนธาตุ องค์ประกอบแห่งศิลป์" สำหรับนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 2 โรงเรียนกาญจนดิษฐ์วิทยาคม.** *วารสารศึกษาศาสตร์มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี*, 22: 131-144.

กรณ์ กรภัทร์ชัยกุล และจารุณี ปล่องบรรจง. (2557). การพัฒนาแบบฝึกเสริมทักษะการอ่านภาษาอังกฤษโดยใช้กิจกรรม KWL-Plus สำหรับนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 4 โรงเรียนสุราษฎร์พิทยา ๒. *วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยฟาร์อีสเทอร์น*, 1: 132-142.

❹ การนำเสนอผลงานในที่ประชุมทางวิชาการ

Amornwat Srangsam and Kamnoon Kanchanapoom (2004). **Polyploid regeneration via callus treated with oryzalin in 'Kluai Sa' and 'Kluai Leb Mu Nang'**, *The 4th "National Symposium on Graduate Research,* 10-11 August 2004, Lotus Pang Suan Kaew, Chiang Mai.

Amornwat Srangsam and Kamnoon Kanchanapoom (2003). **A rapid protocol to establish embryogenic callus for efficient plant regeneration in diploid banana**. *การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย*, 20-22 ตุลาคม 2546, หอประชุมกาญจนาภิเษก, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Amornwat Srangsam and Kamnoon Kanchanapoom (2004). **Tetraploid regeneration via oryzalin-treated callus in Kluai Sa and Kluai Leb Mu Nang.** *การประชุมวิชาการโครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก ครั้งที่ 6*, 28-30 เมษายน 2548, โรงแรมจอมเทียน ปาล์ม บีช รีสอร์ท, ชลบุรี.

Amornwat *S*rangsam and Kamnoon Kanchanapoom (2004). ***In vitro* mass propagation of some native bananas in southern Thailand.** *การประชุมเสนอผลงานระดับบัณฑิตศึกษา*, 12 สิงหาคม 2547, หอประชุมตึกฟักทอง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่.

อมรวรรธน์ สร้างสาม และ คำนูณ กาญจนภูมิ (2547). **การเกิดราก การอนุบาล และการย้ายปลูกต้นกล้ากล้วยบางชนิดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**, *การประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 4* โรงแรมเจบี อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา.

Korn Koarapatchaikol and Kamnoon Karnchanapoom (2010). **Occurrence of somatic embryogenesis of papaya (*Carica papaya* L.) embryo culture**. *36th Congress on Science and Technology of Thailand*, 26-28 Oct. 2010, Bitech, Bangna, Bangkok, Thailand.

Korn Koarapatchaikol (2011). ***In Vitro* Plant Regeneration from Mature Leaf in *Torenia fournieri* Lindl. ex Fourn.** *37th Congress on Science and Technology of Thailand*, October 10-12, 2011, Centara Grand Hotel, Central World, Bangkok.

Korn Koarapatchaikol, Yeedahea, A., Mayeng, P., Jeamu, A., and Abdullao, S. (2012). **Anatomical Study of Stem, Root and Leaf of Bamboo grass (*Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels.)** *11th National Horticulture Congress*, 1-3 February, 2012. The Impress Hotel, Changkhran Road, Changmai, Thailand.

ลัดดาวัลย์ รักษ์ธรรม, **กรณ์ กรภัทร์ชัยกุล** และ ศักดิ์ชัย กรรมารางกูร. (2555). **การขยายพันธุ์โมกมัน (*Wrightia arborea* (Dennst.) Mabb.) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**, *การประชุมวิชาการพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 6*, 28-30 มีนาคม 2555, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, จังหวัดสงขลา.

นูรฟาตีหะห์ ซิมะและ และ **กรณ์ กรภัทร์ชัยกุล.** (2555). **การขยายพันธุ์ย่านาง (*Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels.) ในสภาพปลอดเชื้อ**, *การประชุมวิชาการพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 6*, 28-30 มีนาคม 2555, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, จังหวัดสงขลา.

กรณ์ กรภัทร์ชัยกุล. (2555). น้ำมะพร้าวเป็นปัจจัยสำคัญสำหรับการขยายพันธุ์ย่านางในสภาพปลอดเชื้อ. *การประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยพืชเขตร้อนและกึ่งร้อน ครั้งที่ 6*, 26-27 กรกฎาคม 2555, หอประชุมเบญจรัตน์ อาคารนวมินทรราชินี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ, กรุงเทพฯ.

กรณ์ กรภัทร์ชัยกุล. (2557). **การขยายพันธุ์ขมิ้นชันด้วยตายอดจากเหง้าอ่อน.** การประชุมวิชาการพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 8. 2-4 เมษายน พ.ศ. 2557, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่.

กรณ์ กรภัทร์ชัยกุล. (2557). **การชักนำให้พืชสมุนไพร “ย่านาง” เกิดยอดจำนวนมากในหลอดทดลอง**. การประชุมวิชาการพฤกษศาสตร์แห่งประเทศไทย ครั้งที่ 8. 2-4 เมษายน พ.ศ. 2557, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่.

กรณ์ กรภัทร์ชัยกุล และ จารุณี บุญรอด. (2557). **การเพิ่มผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนด้วยวีดีโอสอนเสริมเรื่อง พันธุกรรมและพฤติกรรมของสัตว์ สำหรับนักศึกษาที่เรียนรายวิชาชีววิทยา 2 ปีการศึกษา 2557**,การประชุมวิชาการ The 3rd PSU Education Conference “Education Harmonization Beyond Frontier to AEC”, 18-19 ธันวาคม 2557, ศูนย์ประชุมนานาชาติฉลองสิริราชสมบัติครบ 60 ปี, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

❺ เอกสาร/ตำรา/หนังสือ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	ปีที่ผลิต	2555
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (ฉบับปรับปรุง ครั้งที่ 1)	ปีที่ผลิต	2556
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (ฉบับปรับปรุง ครั้งที่ 2)	ปีที่ผลิต	2557

❻ ทุนวิจัย

1. **ทุนหมวดเงินรายได้มหาวิทยาลัยราชภัฏสุราษฎร์ธานี** ปีงบประมาณ 2553 สนับสนุนงานวิจัย เรื่อง **การขยายพันธุ์ย่านางโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**

2. **ทุนหมวดงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ 2555 (วช. 55)** สนับสนุนงานวิจัยเรื่อง **การชักนำให้เกิดพอลิพลอยด์ในขมิ้นชัน**

❼ งานวิจัยที่สนใจ

1. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช
2. นวัตกรรมและเทคโนโลยีทางการศึกษา