P-ISSN 2586-9000
E-ISSN 2586-9027
วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี Homepage : *http://li01.tci-thaijo.org/index.php/tstj*
ปีที่ 30 ฉบับที่ 1 (มกราคม-กุมภาพันธ์ 2565) หน้า [51-62]

ผลของ BA และ NAA ต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของยอดพวงชวา (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook.f. & Thomson) ในสภาพปลอดเชื้อ

Effects of BA and NAA on Seed Germination and *in vitro* Shoot Growth of Phuang Chawa (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook.f. & Thomson)

จุฑามาศ นามะลัง[1], บัณฑิตา เพ็ญสุริยะ[2], น้ำฝน ชาชัย[2], เตชิตา ปิ่นสันเทียะ[2], พงศกร นิตย์มี[2], สุรสิทธิ์ วงศ์สัจจานันท์[2], พงษ์ศักดิ์ แก้วศรี[2], เรวัตร จินดาเจี่ย[2], จรรยา มุ่งงาม[2], ภัทรา ประทับกอง[2], จักรกฤษณ์ ศรีแสง[2,*]

[1]สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา นครราชสีมา 30000

[2]สถานีวิจัยลำตะคอง ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมเกษตรสร้างสรรค์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ปทุมธานี 12120

Jutamas Namalang[1], Banthita Pensuriya[2], Nanfon Chachai[2], Techita Pinsanthia[2], Pongsakorn Nitme[2], Surasit Wongsatchanan[2], Pongsak Kaewsri[2], Rewat Chindachia[2], Janya Mungngam[2], Phattra Pratubkong[2], Jakkrit Sreesaeng[2,*]

[1]Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Nakhon Ratchasima Rajabhat University, Nakhon Ratchasima 30000

[2]Lamtakong Research Station, Expert Centre of Innovative Agriculture, Thailand Institute of Scientific and Technological Research, Pathum Thani 12120

Received 29 October 2020; Received in revised from 13 July 2021; Accepted 2 August 2021

***ผู้รับผิดชอบบทความ:** jakkritoneku@gmail.com **doi:**

บทคัดย่อ

พวงชวา หรือระฆังแก้ว (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook.f. & Thomson) เป็นไม้เถาในวงศ์พระจันทร์ครึ่งซีก (Campanulaceae) มีหัวใต้ดิน ขึ้นตามชายป่าดิบเขาหรือป่าสน ความสูงจากระดับน้ำทะเล 1,000-2,000 เมตร เป็นพืชสมุนไพรรักษากลุ่มโรคเบาหวาน การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถเพิ่มจำนวนต้นได้เป็นจำนวนมาก การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของอาหารสูตร MS ที่เติม benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ naphthalene acetic acid (NAA) ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร ต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของยอดพวงชวาในสภาพปลอดเชื้อ ระยะเวลา 1 เดือน และ 2 สัปดาห์ ตามลำดับ ผลการทดลอง พบว่า เมล็ดพวงชวางอกได้ดีที่สุด 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร และในการศึกษาการเจริญเติบโตของยอดพวงชวาในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดได้สูงสุด (2.78 และ 3.20 ยอด ตามลำดับ) และอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำให้เกิดรากมากที่สุด ซึ่งวิธีการและสูตรอาหารจากการทดลองนี้สามารถนำไปใช้เพื่อการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์พันธุกรรมพวงชวาได้

คำสำคัญ: วงศ์พระจันทร์ครึ่งซีก; ฮอร์โมนพืช; ความเข้มข้น; การเจริญเติบโต; อัตราการงอก; เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Abstract

Phuang Chawa (*Codonopsis javanica* (Blume) Hook.f. & Thomson) is a vine plant with tuberous roots belonging to the Campanulaceae family. The plant grows in the evergreen or pine forest at 1,000–2,000 meters height above sea level. This plant is considered a medicinal plant that is used for the treatment of diabetes disease. The objective of this experiment was to evaluate the effect of MS media supplemented with benzyladenine (BA) at 0, 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0 mg/L and naphthalene acetic acid (NAA) at 0, 0.5, and 1.0 mg/L on *in vitro* seed germination and shoot growth of Phuang Chawa. The results revealed that the highest seed germination of 70% was observed on MS medium supplemented with 0.5 mg/L NAA and 2.0 mg/L BA. The results of *in vitro* shoot growth of Phuang Chawa showed that the highest number of shoots was obtained from MS medium supplemented with 1.0 mg/L NAA in combination with 1.5 and 2.0 mg/L BA (2.78 and 3.20 shoots, respectively), and the highest root number was obtained from MS media supplemented with 0.5 mg/L NAA. The protocol from this study might be useful for *in vitro* multiplication and conservation of Phuang Chawa.

Keywords: Campanulaceae; Plant hormones; Concentration; Growth; Germination rate; Tissue culture

1. บทนำ

พวงชวา หรือระฆังแก้ว (*C. javanica* Blume Hook.f. & Thomson) เป็นไม้เถา มีหัวใต้ดิน เป็นพืชในวงศ์พระจันทร์ครึ่งซีก (Campanulaceae) โดยพืชสกุล *Codonopsis* มีจำนวน 42 ชนิด พบกระจายพันธุ์ในพื้นที่ตอนกลาง ตะวันออกและตอนใต้ของทวีปเอเชีย ได้แก่ ประเทศอินเดีย ภูฏาน เนปาล จีนตอนใต้ พม่า ลาว เวียดนาม ชวา ในประเทศไทย พบกระจายทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ขึ้นตามชายป่าดิบเขาหรือป่าสน ความสูง 1,000 – 2,000 เมตรจากระดับน้ำทะเล [1] พืชหลายชนิดของสกุล *Codonopsis* มีคุณสมบัติทางยาและมีรายงานการใช้เป็นยาสมุนไพร ดังเช่น He และคณะ (2014) [2] รายงานว่า ตังเซียม (*C. pilosula* (Franch.) Nannf.) และ Todok (*C. lanceolata* (Sieb. et Zucc.) Benth. & Hook.f. ex Trautv.) เป็นพืชสมุนไพรที่มีการใช้กันมากอันดับต้นๆ ของพืชในสกุล *Codonopsis* โดยส่วนมากจะมีสารประกอบจำพวก polyacetylenes, phenylpropanoids, alkaloids, triterpenoids และ polysaccharides มีรายงานการศึกษาการใช้พวงชวาและพืชในสกุล *Codonopsis* ในการรักษาโรคเบาหวาน และในใบพวงชวามีส่วนประกอบของน้ำมันหอมระเหยที่ประกอบด้วย β-pinene (20.8 เปอร์เซ็นต์) และ α-pinene (15.4 เปอร์เซ็นต์) [3-4] ในประเทศจีนมีการศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดจากรากพวงชวาในการต่อต้านภาวะไฮเพอร์อินซูลินีเมีย (Hyperinsulinemia) หรือภาวะที่มีอินซูลินในเลือดสูงมาก และทดลองใช้ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยทดลองในสัตว์ทดลอง พบว่า สารสกัดจากรากพวงชวาสามารถช่วยบรรเทาอาการไฮเพอร์อินซูลินีเมียในหนูทดลองได้ [5]

พวงชวาเป็นพืชป่าที่หายากในระดับปานกลาง อีกทั้งยังมีคุณสมบัติเป็นพืชสมุนไพรที่สามารถใช้ในการรักษาและบรรเทาอาการของโรคเบาหวาน ซึ่งถือว่ามีความเหมาะสมต่อการขยายพันธุ์เพื่อนำมาศึกษาวิธีการปลูกและแนวทางการอนุรักษ์ต่อไป การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นการขยายพันธุ์พืชอีกวิธีหนึ่ง ที่สามารถขยายพันธุ์พืชในปริมาณมากได้อย่างรวดเร็ว การนำชิ้นส่วนของพืชมาเพาะเลี้ยงลงบนอาหารสังเคราะห์ในสภาพปลอดเชื้อที่มีการควบคุมสภาพแวดล้อม โดยชิ้นส่วนของพืชนั้นสามารถเจริญเติบโตและพัฒนาไปเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ มีทั้งส่วนใบ ลำต้น และรากที่สามารถย้ายออกปลูกในสภาพธรรมชาติได้ [6] จากรายงาน พบว่า มีการเพาะเลี้ยงพืชสกุล *Codonopsis* ในสภาพปลอดเชื้อ ได้แก่ ตังเซียม Todok และพวงชวา [7-8] โดย Slupski และคณะ (2011) [9] รายงานว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.00 µM ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1.00 µM เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงตังเซียมในสภาพปลอดเชื้อ ในขณะที่ Kwon และคณะ (2016) [10] รายงานว่า การเจริญเติบโตของยอดและรากของ Todok ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS ส่วน Huyen และ Truong (2015) [11] รายงานว่า สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงพวงชวาในสภาพปลอดเชื้อ คือ สูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1.00 มิลลิกรัม/ลิตร โดยสามารถชักนำการงอกของเมล็ดเทียมและเพิ่มปริมาณยอดได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานการเพาะเมล็ดพวงชวาที่เก็บเมล็ดจากพื้นที่ป่าที่ได้จากการผสมเกสรและมีพัฒนาการของเมล็ดที่สมบูรณ์ ดังนั้น การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญของยอดพวงชวาในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อให้สามารถขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณต้นพวงชวาให้สามารถนำไปใช้ในการอนุบาลเพื่อการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์ในงานวิจัยด้านสมุนไพรต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ

เก็บตัวอย่างเมล็ดพวงชวาจากพื้นที่อำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ นำเมล็ดที่ได้มาทำความสะอาดและลดความชื้นเมล็ดที่ 20 เปอร์เซ็นต์ ศึกษาเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดพวงชวาในอาหารสูตร MS (Murashige และ Skoog, 1962) [12] ที่เติม BA ความ

เข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร จำนวน 15 สูตร สูตรอาหารละ 10 ซ้ำ ซ้ำละ 10 เมล็ด ดำเนินการฟอกกำจัดเชื้อเมล็ดพวงชวาด้วยคลอรอกซ์ จำนวน 2 ครั้ง ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ และ 5 เปอร์เซ็นต์ เติมสารจับใบ (Tween 20) จำนวน 1-2 หยด เป็นเวลา 5 นาที และ 10 นาที ตามลำดับ ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งกำจัดเชื้อ จำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 3-5 นาที เพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส บันทึกเปอร์เซ็นต์การงอกหลังเพาะ 4 สัปดาห์

2.2 การเจริญเติบโตของยอดในสภาพปลอดเชื้อ

นำยอดพวงชวาที่ได้จากการเพาะเมล็ดบนสูตรอาหาร MS ที่เติม BA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ ยาว 1 เซนติเมตร ย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร จำนวน 15 สูตร สูตรอาหารละ 10 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ยอด เพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส บันทึกความสูงต้น (เซนติเมตร) จำนวนยอด จำนวนราก ความยาวราก (เซนติเมตร) จำนวนใบ ความยาวและความกว้างใบ (เซนติเมตร) ที่อายุ 2 สัปดาห์หลังย้ายยอดอ่อนมาเพาะเลี้ยง

2.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนและนำข้อมูลมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป R

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ

ผลการทดลอง พบว่า เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดพวงชวามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร มีการงอกของเมล็ดสูงสุด 70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสูงกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับค่าดังกล่าวของเมล็ดที่เพาะบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เมล็ดงอก 41.11 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1) และไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย (รูปที่ 1) ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ Koutsovoulou และคณะ (2014) [13] พบว่า การงอกของเมล็ดของพืชในวงศ์ Campanulaceae ต้องใช้แสงเพื่อกระตุ้นให้เกิดกระบวนการงอกโดยใช้แสงในช่วง 8-12 ชั่วโมง โดย Huorg Son และ Thi Lai (2015) [14] รายงานว่า อัตราการงอกของเมล็ดพวงชวาในสภาพธรรมชาติค่อยข้างต่ำ ขณะที่ปัจจุบันยังไม่มีรายงานการทดสอบการงอกของพวงชวาในสภาพปลอดเชื้อ ยกเว้นการศึกษาอัตราการงอกของเมล็ดเทียมของพวงชวาในประเทศเวียดนาม โดยพบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำการงอกของเมล็ดเทียมพวงชวาและเพิ่มปริมาณยอดในสภาพปลอดเชื้อได้ดีที่สุด [11]

3.2 การเจริญเติบโตของยอดในสภาพปลอดเชื้อ

ย้ายชิ้นส่วนยอดลงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ นาน 2 สัปดาห์ (รูปที่ 2) พบว่า ทุกลักษณะที่ศึกษา ได้แก่ จำนวนยอด ความสูงยอด จำนวนใบ ความกว้างใบ ความยาวใบ จำนวนราก และความยาวราก มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ตารางที่ 2) โดยอาหารสูตร MS ที่

Table 1 The effect of BA and NAA at different concentrations on germination percentages of Phuang Chawa (*C. javanica* (Blume) Hook.f. & Thomson) seeds after cultured on the media for 4 weeks

Treatments	Germination (%)
MS free hormones	41.11[b]
0.5 mg/L BA	58.00[ab]
1.0 mg/L BA	50.00[ab]
1.5 mg/L BA	47.00[b]
2.0 mg/L BA	48.57[ab]
0.5 mg/L NAA	57.78[ab]
1.0 mg/L NAA	48.89[ab]
0.5 mg/L NAA + 0.5 mg/L BA	52.22[ab]
0.5 mg/L NAA + 1.0 mg/L BA	47.50[b]
0.5 mg/L NAA + 1.5 mg/L BA	54.00[ab]
0.5 mg/L NAA + 2.0 mg/L BA	70.00[a]
1.0 mg/L NAA + 0.5 mg/L BA	48.89[ab]
1.0 mg/L NAA + 1.0 mg/L BA	52.00[ab]
1.0 mg/L NAA + 1.5 mg/L BA	46.67[b]
1.0 mg/L NAA + 2.0 mg/L BA	54.00[ab]
F-test	*
C.V.(%)	36.33

* = significance at $p<0.05$

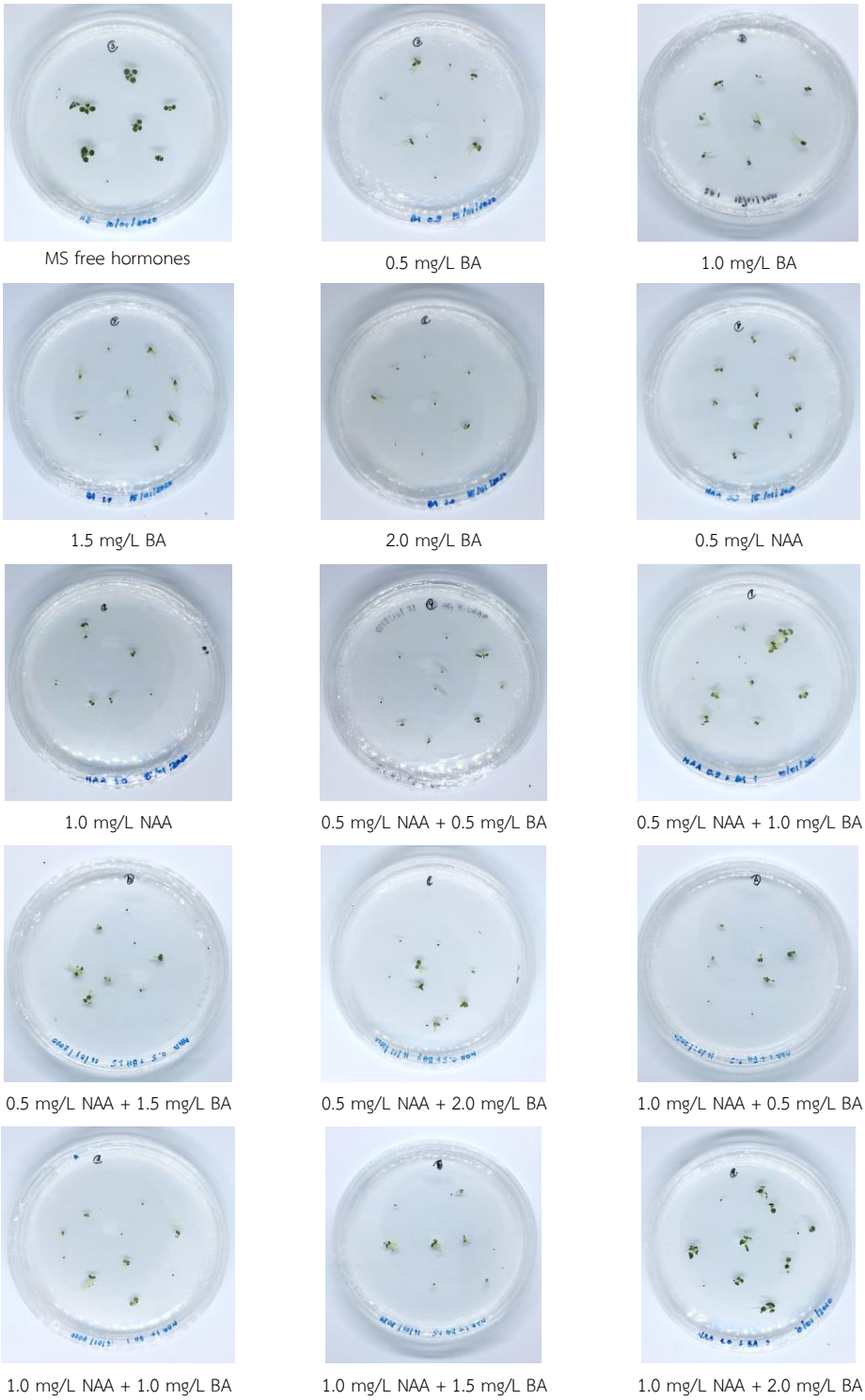

Figure 1 Seed germination of Phuang Chawa (*C. javanica* (Blume) Hook.f. & Thomson) after cultured for 4 weeks on MS medium supplemented with BA and NAA at different concentrations

เติม BA ความเข้มข้น 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุด จำนวน 2.78 และ 3.20 ยอด ตามลำดับ สอดคล้องกับ Slupski และคณะ (2011) [9] พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.00 µM ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1.00 µM สามารถชักนำยอดตังเชียมซึ่งเป็นพืชในสกุลเดียวกันกับพวงชวาได้มากที่สุด และจากการตัดยอดเพื่อนำไปย้ายเนื้อเยื่อในครั้งที่ 4 พบว่า สามารถเพิ่มปริมาณยอดได้สูงสุด 69 ยอด สำหรับความสูงยอดของพวงชวาจากการทดลองนี้ พบว่า อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต อาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร และอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร ส่งผลให้ยอดมีความยาวมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับอาหารสูตรอื่น โดยมีความยาวเท่ากับ (2.51, 3.03 และ 2.30 เซนติเมตร ตามลำดับ) จำนวนใบ พบว่า อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต อาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร อาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร และอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร จำนวน 6 สูตร ทำให้ยอดพวงชวามีจำนวนใบมากที่สุดไม่แตกต่างทางสถิติ (8.44, 9.40, 11.20, 5.80, 6.30 และ 9.40 ใบ ตามลำดับ) ในขณะที่ความกว้างใบ พบว่า อาหารเพาะเลี้ยง จำนวน 7 สูตร สามารถชักนำให้ต้นกล้าพวงชวามีการเจริญเติบโตในลักษณะความกว้างใบมากที่สุด และความยาวใบ พบว่า อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต อาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร และอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้ยอดพวงชวามีใบยาวที่สุด (2.51, 3.03 และ 2.30 เซนติเมตร ตามลำดับ)

รากที่พัฒนาของยอดพวงชวาที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร มีจำนวนรากมากที่สุด 23.3 ราก โดยมีลักษณะเป็นรากฝอยขนาดเล็กจำนวนมาก ซึ่งแตกต่างอย่างเห็นได้ชัดจากยอดที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตรอื่น ความยาวของราก พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้มีรากยาวที่สุด 1.25 เซนติเมตร จากผลการทดลองเพาะเลี้ยงยอดพวงชวาในสภาพปลอดเชื้อในระยะเวลา 2 สัปดาห์หลังย้ายเนื้อเยื่อ พบว่า ยอดมีการเจริญเติบโตดีและมีระดับความสูงที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งยอดที่เจริญเติบโตในบางสูตรอาหารมีการเจริญเติบโตถึงฝาขวดเพาะเลี้ยงขนาด 4 ออนซ์ ในระยะเวลาเพียง 2 สัปดาห์ ในขณะที่ Huorg Son และ Thi Lai (2015) [14] ที่ทดลองชักนำยอดพวงชวาในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า สามารถชักนำยอดได้สูงสุด 19.28 ยอด เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Schenk and Hildebrandt (SH) ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร, NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร แซ็คคาโรส (saccharose) 3 เปอร์เซ็นต์ วุ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ และน้ำมะพร้าว 10 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 4 สัปดาห์ โดยที่ TDZ เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน และน้ำมะพร้าวก็มีคุณสมบัติเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินเช่นกัน เป็นสารที่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์และพัฒนาของตายอด ซึ่งมีคุณสมบัติเหมือนกันกับ BA ที่ใช้ในการทดลองนี้ จึงทำให้สามารถชักนำให้พวงชวามีการเกิดยอดได้ดี ส่วน NAA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน ที่กระตุ้นการยืดตัวของเซลล์ และกระตุ้นการเกิดราก ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 2 กลุ่ม มีความสัมพันธ์กัน ส่งผลต่อการแสดงออกและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนพืชและชนิดที่แตกต่างกัน [6] สำหรับการเพาะเลี้ยงพืชสกุล *Codonopsis* ที่มีรายงานการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ได้แก่ ตังเชียม Todok และพวงชวา โดย Slupski และคณะ (2011) [9] พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.00 µM ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1.00

μM เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงตังเชียมในสภาพปลอดเชื้อ ในขณะที่ Kwon และคณะ (2016) [10] รายงานว่าอาหารสูตร ½ MS ทำให้การเจริญเติบโตของลำต้นและราก Todok ดีที่สุด ทั้งนี้ การพิจารณาเลือกสูตรอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงจำเป็นต้องพิจารณาถึงต้นทุนค่าใช้จ่ายในส่วนของสารเคมีและระดับความเข้มข้นของฮอร์โมนที่ใช้ด้วย เพื่อให้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชในสภาพปลอดเชื้อมีประสิทธิภาพและประสิทธิผลสูงสุด โดยจากผลการทดลองนี้ หากใช้เกณฑ์ต้นทุนในการพิจารณาเลือกสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สามารถเลือกอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร เพื่อใช้ในการขยายพันธุ์พวงชวาในสภาพปลอดเชื้อ โดยที่พวงชวาเป็นพืชที่มีวิสัยแบบไม้เลื้อย ทำให้สามารถเจริญเติบโตในด้านความสูงต้นได้อย่างรวดเร็วเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เมื่อเพาะเลี้ยงยอดพวงชวาในอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร เนื่องจาก NAA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน ที่มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการขยายตัวของเซลล์ (Cell enlargement) และการเกิดราก ทำให้ยอดพวงชวามีความสูงจนถึงฝาขวดเพาะเลี้ยงขนาด 4 ออนซ์ ได้ในเวลาเพียงแค่ 2 สัปดาห์ อย่างไรก็ตาม สูตรอาหารดังกล่าวสามารถชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ยเพียง 1.40 ยอดเท่านั้น เนื่องจากสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินจะไปยับยั้งการเจริญเติบโตของตาข้างและตายอดของพืช ทั้งนี้ ความสามารถในการยับยั้งตายอดและการกระตุ้นการขยายตัวของเซลล์จะขึ้นอยู่กับปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโต และสัดส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินและไซโตไคนินที่เติมในอาหารเพาะเลี้ยงอีกด้วย [6] โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพวงชวาเพื่อการใช้ประโยชน์สามารถเพาะเลี้ยงโดยใช้ชิ้นส่วนยอดได้ อย่างไรก็ตาม ในด้านการอนุรักษ์ความหลากหลายทางพันธุกรรมพืช การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากเมล็ดพืชที่ผ่านการผสมเกสรในสภาพธรรมชาติ นอกจากจะสามารถเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์ในปริมาณมาก ยังสามารถอนุรักษ์ความหลากหลายทางพันธุกรรมพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ [15]

Table 2 The effect of BA and NAA at different concentrations on *in vitro* shoot growth of Phuang Chawa *(C. javanica* (Blume) Hook.f. & Thomson) after cultured for 2 weeks

Treatments	Shoot number	Shoot height (cm.)	Leaf number	Leaf width (cm.)	Leaf length (cm.)	Root number	Root length (cm.)
MS free hormones	1.00^{d}	2.51^{ab}	8.44^{abcd}	0.28^{ab}	0.32^{a}	5.89^{c}	0.73^{b}
0.5 mg/L BA	1.22^{d}	0.87^{def}	4.60^{bcd}	0.12^{b}	0.14^{g}	2.50^{cd}	0.69^{b}
1.0 mg/L BA	1.00^{d}	0.62^{ef}	4.10^{bcd}	0.62^{a}	0.15^{g}	1.30^{d}	1.25^{a}
1.5 mg/L BA	1.00^{d}	0.57^{f}	3.30^{d}	0.14^{b}	0.16^{fg}	1.00^{d}	0.49^{bcd}
2.0 mg/L BA	1.00^{d}	0.61^{ef}	3.80^{cd}	0.13^{b}	0.15^{g}	1.20^{d}	0.18^{d}
0.5 mg/L NAA	1.40^{d}	3.03^{a}	9.40^{ab}	0.34^{ab}	0.29^{ab}	23.30^{a}	0.31^{bd}
1.0 mg/L NAA	1.00^{d}	1.07^{cde}	11.20^{a}	0.12^{b}	0.13^{g}	2.80^{cd}	0.26^{bd}
0.5 mg/L NAA + 0.5 mg/L BA	1.67^{cd}	1.24^{dc}	5.80^{abcd}	0.22^{ab}	0.27^{abc}	5.60^{c}	0.25^{bd}
0.5 mg/L NAA + 1.0 mg/L BA	2.22^{bcd}	1.41^{e}	6.30^{abcd}	0.25^{ab}	0.25^{bcdef}	3.70^{cd}	0.28^{bd}
0.5 mg/L NAA + 1.5 mg/L BA	2.20^{bcd}	0.87^{def}	4.10^{bcd}	0.20^{ab}	0.23^{cdef}	1.22^{d}	0.25^{bd}
0.5 mg/L NAA + 2.0 mg/L BA	1.00^{d}	0.96^{cdef}	5.20^{bcd}	0.17^{b}	0.19^{efg}	1.90^{cd}	0.33^{bd}
1.0 mg/L NAA + 0.5 mg/L BA	1.33^{d}	1.37^{c}	4.89^{bcd}	0.18^{ab}	0.20^{cdefg}	4.13^{cd}	0.25^{bd}
1.0 mg/L NAA + 1.0 mg/L BA	1.60^{cd}	0.96^{cdef}	4.40^{bcd}	0.15^{b}	0.19^{defg}	1.20^{d}	0.32^{bd}
1.0 mg/L NAA + 1.5 mg/L BA	2.78^{ab}	0.95^{cdef}	4.44^{bcd}	0.16^{b}	0.23^{bcdef}	1.14^{d}	0.46^{bcd}
1.0 mg/L NAA + 2.0 mg/L BA	3.20^{a}	2.30^{ab}	9.40 ^{ab}	0.28^{ab}	0.26^{abc}	14.00^{b}	0.58^{cb}
F-test	*	*	*	*	*	*	*
C.V. (%)	89.93	65.30	43.84	70.31	45.26	139.69	92.16

* = significance at p<0.05

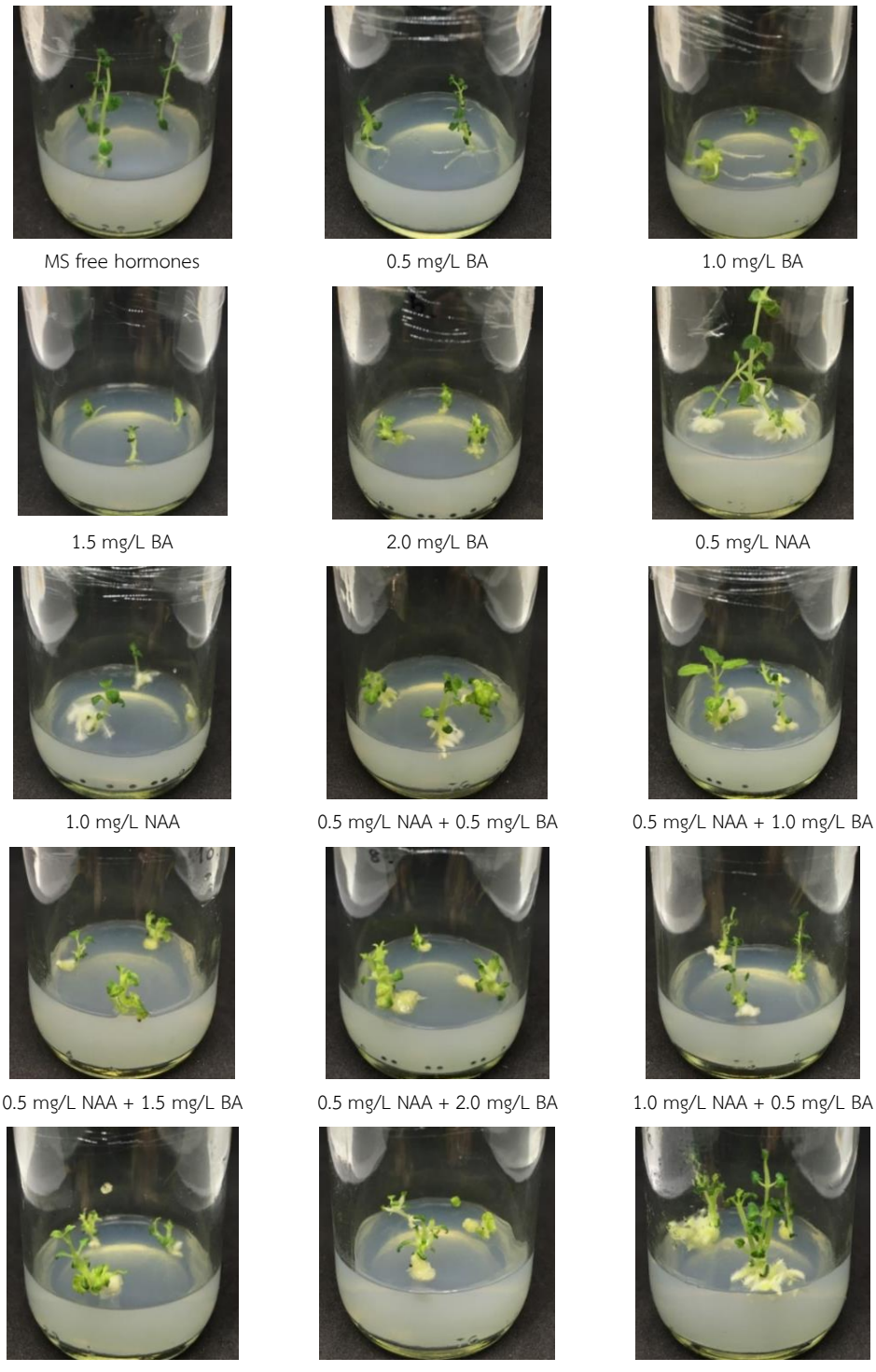

Figure 2 The effect of BA and NAA at different concentrations on *in vitro* shoot growth of Phuang Chawa (*C. javanica* (Blume) Hook.f. & Thomson) after cultured for 2 weeks

4. สรุปผลการวิจัย

การขยายพันธุ์ต้นพวงชวาเพื่อการอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์เพื่อการวิจัยในอนาคต สามารถดำเนินการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ โดยหากใช้เกณฑ์ต้นทุนในการพิจารณาเลือกสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สามารถเลือกอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร เพื่อใช้ในการขยายพันธุ์พวงชวาในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งสามารถเพิ่มปริมาณยอดได้ดีและมีการเจริญเติบโตของต้นพันธุ์ที่ดีสามารถนำไปใช้ในการอนุบาลในสภาพโรงเรือนและเพื่อการอนุรักษ์พันธุกรรมพวงชวาต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ที่ให้การสนับสนุนอุปกรณ์ เครื่องมือ สารเคมี ตลอดจนโรงเรือนที่ใช้ในการทดลองและห้องปฏิบัติการฯ และขอขอบคุณนักวิจัยและผู้ช่วยวิจัยสถานีวิจัยลำตะคอง และนักศึกษาฝึกงานจากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา ที่อำนวยความสะดวกและช่วยเหลือในการดำเนินการทดลองในครั้งนี้

6. References

[1] Forest Herbarium, Campanumoea javanica Blume, Available Source: https://www.dnp.go.th/Botany/mindexplantmonthdetail.aspx?smonth=201403&syear=2014, June 17, 2021. (in Thai)

[2] He, J.Y., Ma, N., Zhu, S., Komatsu, K., Li, Z.Y. and Fu, W.M., 2015, The genus Codonopsis (Campanulaceae): a review of phytochemistry, bioactivity and quality control, J. Nat. Med. 69: 1-21.

[3] Hoi, T.M., Dai, D.N., Ha, C.T.T., Anh, H.V. and Ogunwande, I.A., 2019, Essential oil constituents from the leaves of *Anoectochilus setaceus, Codonopsis javanica and Aristolochia kwangsiensis* from Vietnam, Rec. Nat. Prod. 13(3): 281-286.

[4] Huong, L.T., Dai, D.N., Thang, T.D. and Ogunwande, I.A., 2018, Chemical constituents of essential oils from some Vietnamese plants. FU. Phys. Chem. Technol. 16(1): p. 19.

[5] Chen, K.K., Wen, H., Chien, W., Chung, C., Hwei, C., Chia, K. and Mallikarjuna, K., 2013, *Codonopsis javanica* root extracts attenuate hyperinsulinemia and lipid peroxidation in fructose-fed insulin resistant rats, J. Food Drug. Anal. 21: 347-355.

[6] Kawi Ta, R., 2002, Plant tissue culture: Principles and techniques, type II 3, Agronomy Department, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok, 219 p.

[7] Duc, T.D., Hoa, B.T. and Minh, T.V., 2017, *In vitro* cloning of Dang Sam (*Codonopsis pilosula* (Franch) Nannf), JIAPS. 2(2): 1-5.

[8] Zhang, Y.H, Gao, S.F., Du, T., Chen, H.G., Wang, H.Z., Zhu, T.T. and Zhang, J.W., 2011, Direct multiple shoot induction and plant regeneration from dormant buds of *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf, Afr. J. Biotechnol. 10(50): 10509-10515.

[9] Slupski, W., Tubek, B. and Matkowski, A., 2011, Micropropagation of *Codonopsis pilosula* (franch.) Nannf by axillary shoot multiplication, Acta Biol. Crac. Ser. Bot. 53(2): 87-93.

[10] Kwon, S.J., Seo, D.Y., Cho, G.Y., Kim, H.J., Lee, M.S., Boo, H.O., Woo, S.H. and Kim, H.H., 2016, Effects of medium compositions on organogenesis in the *in vitro* cultured diploid and tetraploid Codonopsis lanceolate, J. Korean Soc. Int. Agric. 28(3): 371-378.

[11] Huyen, P.X. and Truong, D.H., 2015, Effect of culture media on in vitro germination rate and shoot-forming potential of *Codonopsis javanica* (Blume) Hook f. & Thomson artificial seeds, Afr. J. Agric. Res. 10(52): 4755-4761.

[12] Murashige, T. and Skoog, F., 1962, A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15(3): 473-497.

[13] Koutsovoulou, K., Daws, M.I. and Thanos, C.A., 2014, Campanulaceae: a family with small seeds that require light for germination, Ann. Bot. 113: 135-143.

[14] Hương Sơn, P. and Thị Lài, N., 2015, Effects of plant growth regulators on the morphogenesis of *Codonopsis javanica* (Blume) under in vitro conditions, Vietnam J. Sci. Technol. 2: 55-59.

[15] Rech Filho, A., Dal Vesco, L.L., Nodari, R.O., Lischka, R.W., Mu¨Ller, C.V. and Guerra, M.P., 2005, Tissue culture for the conservation and mass propagation of *Vriesea reitzii* Leme and Costa, a bromeliad threatened of extinction from the Brazilian Atlantic Forest, Biodivers. Conserv. 14: 1799-1808.