Srinakharinwirot University Journal of Sciences and Technology

Volume 17, Issue 2, July-December 2025, Pages 1 – 15 ISSN 2985-2641 (Online)

Research Article

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตจากแบคทีเรียเอนโดไฟต์ต่อการขยายพันธุ์พืชวงศ์ขิงที่หายากและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจด้วยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

The Effects of Plant Growth Regulators From Endophytic Bacteria on Propagation of Rare and Economically Valuable Plants (Zingiberaceae) by Plant Tissue Culture Technique

***กุลวดี คตชนะเลขา*[1]*, *จันทร์จิรา ตรีเพชร*[1], *ณัฐพงศ์ ชัยภักดี*[2]

***Kulwadee Khotchanalekha*[1]*, *Janjira Triped*[1], *Nattapong Chaipukdee*[2]

[1]*คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏชัยภูมิ*

[1]*Faculty of Arts and Science, Chaiyaphum Rajabhat University.*

[2]*คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏชัยภูมิ*

[2]*Faculty of Education, Chaiyaphum Rajabhat University.*

**Corresponding author, e-mail: kulwadee.k@cpru.ac.th*

Received: *22 October 2024*; ***Revised:*** *20 August 2025*; ***Accepted:*** *20 August 2025*

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจพืชวงศ์ขิงที่หายากและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจภายในจังหวัดชัยภูมิ และขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนให้มากขึ้นด้วยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชโดยคัดเลือกอาหารสูตรที่เหมาะสมต่ออการชักนำให้เกิดยอดและรากจากเนื่อเยื่อพืชวงศ์ขิงโดยใช้ฮอร์โมนพืชจากแบคทีเรียเอนโดไฟต์ไอโซเลท ZCK-8 ร่วมกับฮอร์โมนพืชทางการค้า ผลการวิจัยครั้งนี้พบว่า สามารถรวบรวมพืชวงศ์ขิงจากพื้นที่กลุ่มวิสาหกิจชุมชนกลุ่มสมุนไพรในจังหวัดชัยภูมิ ได้แก่ กลุ่มวิสาหกิจชุมชนกลุ่มสมุนไพรเพื่อสุขภาพ บ้านท่าทางเกวียน และกลุ่มวิสาหกิจชุมชนวิถีไทบ้านไทรงาม ซึ่งทั้งสองกลุ่มนี้เป็นแหล่งที่มีการใช้พื้นที่ปลูกและรวบรวมพันธุ์เพื่อการอนุรักษ์ด้วย พบว่า มีการปลูกและรวบรวมพันธุกรรมพืชวงศ์ขิงทั้งหมด 4 สกุล 8 ชนิด ได้แก่ ขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) ไพล (*Zingiber cassumunar* Roxb.) ข่า (*Alpinia galanga* (L.) Willd.) กระชาย (*Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf.) ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) ขมิ้นขาว (*Curcuma mangga* Valeton and Zijp.) บัวสวรรค์หรือปทุมมา (*Curcuma alismatifolia*) และกระเจียวขาว (*Curcuma parviflora*) พืชน่าสนใจคือ กระเจียวขาว (*Curcuma parviflora*) เนื่องจากไม่พบข้อมูลสถานภาพของชนิดพันธุ์ โดยใช้หลักเกณฑ์

การจำแนกจาก IUCN Red List และ Threatened Plants in Thailand เมื่อนำไปขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อตัวอย่างพืชที่ได้จากสภาพธรรมชาติที่เลือกใช้คือฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 1 ด้วย 20% สารละลาย Clorox 10 นาที และฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 2 ด้วย 10% สารละลาย Clorox 10 นาที ทำให้ตัวอย่างพืชมีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ 96% นอกจากนี้ตัวอย่างพืชสามารถเพิ่มจำนวนได้ดีที่สุด 2.5 ยอด/ชิ้นเนื้อเยื่อ เมื่อทดลองใช้อาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ร่วมกับฮอร์โมน IAA จากแบคทีเรียเอนโดไฟต์แทนฮอร์โมนทางการค้า NAA (1:0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่า สามารถชักนำให้ต้นอ่อนเกิดยอด ร้อยละ 100 และมีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 2.25 ยอด/ชิ้นส่วนพืช นอกจากนี้สูตรอาหารที่เติม IAA จากไอโซเลต ZCK-8 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว ทำให้ชิ้นส่วนพืชมีจำนวนรากและความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุดด้วย จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าฮอร์โมน IAA จากไอโซเลต ZCK-8 สามารถชักนำการเพิ่มจำนวนยอดและรากของตัวอย่างพืชได้ดีใกล้เคียงกับฮอร์โมนทางการค้า NAA

คำสำคัญ: พืชวงศ์ขิง; แบคทีเรียเอนโดไฟต์; สารควบคุมการเจริญเติบโต; เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

Abstract

The purposes of this study were to investigate rare and economically valuable plants (Zingiberaceae) in Chaiyaphum Province and to expand their population by using tissue culture technique. The study's findings demonstrated that ginger plants could be gathered from the regions covered by the herb group community enterprises in the province of Chaiyaphum, which included Ban Tha Thang Kwian and the Thai Way Ban Sai Ngam. These two groupings are sources that plant for agricultural cultivation and gather species for conservation. It was found that a total of 4 genera and 8 species of ginger plants were planted and collected, such as ginger (*Zingiber officinale* Roscoe), Pyle (*Zingiber cassumunar* Roxb), Galangal (*Alpinia galanga* (L.) Willd.), Chinese keys *(Boesenbergia rotunda* L. Mansf.), Turmeric (*Curcuma longa* L.), Mango ginger (*Curcuma mangga* Valeton and Zijp), Pathumma (*Curcuma alismatifolia*), and White Okra (*Curcuma parviflora*). An interesting plant, White Okra samples were surface sterilized before propagated through plant tissue culture. This was achieved by first sterilizing with 20% Clorox for 10 minutes and then sterilizing them again with 10% Clorox for 10 minutes, resulting in a 96% sterility rate for the plant samples. Additionally, the plant samples could increase the most in number at 2.5 shoots per tissue piece. When MS medium supplemented with TDZ in combination with IAA derived from endophytic bacteria was used in place of commercial NAA (1:0.1 mg/L), a 100% shoot induction rate was achieved, with the highest average number of shoots at 2.25 shoots per explant. Moreover, the medium containing only IAA (0.1 mg/L) from isolate ZCK-8 resulted in the highest average number of roots and root length per explant. The results of the experiment indicated that the IAA hormone from the ZCK-8 isolate could successfully stimulate the growth of plant samples' shoots and roots comparable to the commercial hormone NAA.

Keywords: Zingiberaceae; endophytic bacteria; plant growth regulators; plant tissue culture

บทนำ

พรรณพืชวงศ์ขิง (family Zingiberaceae) ในประเทศไทยคาดว่าพบได้ประมาณ 26 สกุล 300 ชนิด (Larsen and Larsen, 2006) [1] พืชที่อยู่ในวงศ์ขิงมีลักษณะเด่นคือเป็นพืชล้มลุกหลายฤดู มีลำต้นใต้ดินแบบไรโซมหรือเหง้า และมีกลิ่นเฉพาะตัวซึ่งเกิดจากน้ำมันหอมระเหยที่เป็นต่อมน้ำมันอยู่ภายในเซลล์ คนไทยรู้จักนำพืชวงศ์ขิงมาใช้ประโยชน์ในชีวิตประจำวันได้อย่างกว้างขวางและสืบทอดกันมาอย่างต่อเนื่อง นับว่าเป็น "ภูมิปัญญาพื้นบ้าน" ที่น่าภาคภูมิใจ ได้แก่ นำมาประกอบอาหารหรือเป็นเครื่องเทศ นำมาใช้เป็นสมุนไพร นำมาใช้เป็นไม้ประดับ บางชนิดพบว่ามีการปรับปรุงพันธุ์เพื่อส่งออกขายต่างประเทศ บางชนิดปลูกเพื่อให้โชคลาภหรือเพื่อความเป็นสิริมงคลกับชีวิตผู้ปลูก อย่างไรก็ตาม ความหลากหลายทางชีวภาพของพันธุกรรมพืชในประเทศไทยมีแนวโน้มลดน้อยลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากการพัฒนาของเทคโนโลยีและการขยายพื้นที่อยู่อาศัยของทรัพยากรมนุษย์ที่เพิ่มขึ้น และมีการนำพืชมาใช้ประโยชน์อย่างมาก ส่งผลให้พืชวงศ์ขิงหลายชนิดซึ่งเป็นไม้พื้นล่างในป่าเขตร้อนมีความเสี่ยงที่จะลดจำนวนลงอย่างรวดเร็วและมีแนวโน้มใกล้สูญพันธุ์ ในจำนวนพรรณพืชวงศ์ขิงที่เคยมีการสำรวจในจังหวัดชัยภูมิ พบว่า มี 5 ชนิดที่เป็นพืชหายากตามเกณฑ์การประเมินสภาพของ IUCN Red List ได้แก่ *Amomum villosum* Lour., *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf., *Curcuma alismatifolia* Gagnep., *C. harmandii* Gagnep. และ *Stahlianthus macrochlamys* (Baker) Craib (Khamtang et al., 2014) [2] ดังนั้น การสำรวจเพื่อให้ทราบชื่อวิทยาศาสตร์และสถานภาพพืชวงศ์ขิงในพื้นที่จังหวัดชัยภูมิ เป็นแนวทางหนึ่งในการอนุรักษ์ควบคู่กับการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนต่อไป

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (plant tissue culture) เป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชที่มีประสิทธิภาพสามารถเพิ่มจำนวนต้นพืชอย่างรวดเร็ว และรักษาความคงตัวทางพันธุกรรมได้ การเพิ่มจำนวนยอดและการชักนำให้เกิดรากเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อขยายพันธุ์ (Autaijamsripon et al., 2018) [3] โดยไซโทไคนิน (cytokinin) เช่น Thidiazuron (TDZ) benzyladenine (BA) และออกซิน (auxin) เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่นิยมใช้ในการเพิ่มจำนวนยอดและชักนำให้เกิดราก มีผลทำให้ชิ้นส่วนพืชเกิดการแบ่งเซลล์ ยืดยาว ตลอดจนเปลี่ยนแปลงและพัฒนาไปเป็นอวัยวะอย่างสมบูรณ์

ออกซินที่นิยมใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชคือ IAA (3-indoleacetic acid), IBA (3-indolebutyric acid), NAA (naphthalene acetic acid) และ 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid) ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ที่สังเคราะห์ขึ้นมาโดยกระบวนการทางเคมี มีการนำมาใช้เป็นฮอร์โมนพืชกันอย่างกว้างขวาง แต่มีราคาค่อนข้างสูง ทำให้ต้นทุนการขยายพันธุ์พืชสูงขึ้นตามไปด้วย อย่างไรก็ตามมีรายงานการส่งเสริมการเจริญเติบโตพืชด้วยจุลินทรีย์โดยเฉพาะแบคทีเรียเอนโดไฟต์ (endophytic bacteria) ซึ่งเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่มีแหล่งที่อยู่ภายในช่องว่างระหว่างเซลล์ภายในเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของพืช โดยที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายใด ๆ ปัจจุบันแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากเนื่องจากหลาย ๆ สายพันธุ์สามารถแยกเชื้อออกมาจากตัวอย่างพืชได้ และมีความสามารถในการผลิตฮอร์โมน IAA ได้ เช่น แบคทีเรียในสกุล *Bacillus*, *Microbacterium*, *Methylophaga*, *Agromyces*, and *Paenibacillus* (Khan and Doty, 2009) [4], (Naveed et al., 2014) [5], (Weyens et al, 2009) [6] นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาใช้แบคทีเรียเอนโดไฟต์ที่ผลิตฮอร์โมน IAA ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชหลากหลายชนิด เช่น ข้าว ดีปลี ถั่ว (Khiannngam et al., 2023) [7], (Phurailatpam et al., 2024) [8], (Tsavkelova et al., 2024) [9] การเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียเอนโดไฟต์ในอาหารราคาถูกเพื่อให้ผลิต IAA แล้วนำ IAA ไปใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชวงศ์ขิง จึงน่าจะเป็นแนวทางที่ดีในการลดต้นทุนการผลิตต้นพันธุ์พืชได้ แต่ต้องศึกษาถึงปริมาณ IAA ที่แบคทีเรียเอนโดไฟต์ผลิตได้ตามความต้องการของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแต่ละสูตรด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อสำรวจพืชวงศ์ขิงที่หายากและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจภายในจังหวัดชัยภูมิ

2. ทดสอบผลของฮอร์โมนจากแบคทีเรียเอนโดไฟต์ร่วมกับฮอร์โมนทางการค้าที่มีต่อการชักนำให้เกิดยอดและรากจากเนื้อเยื่อพืชวงศ์ขิงที่หายากและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การสำรวจรวบรวมแหล่งพันธุกรรมพืชวงศ์ขิงที่หายากและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจภายในจังหวัดชัยภูมิ

ศึกษาเอกสารงานวิจัย ออกสำรวจ และเก็บตัวอย่างพืชวงศ์ขิงที่หายากและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจในพื้นที่กลุ่มวิสาหกิจชุมชนกลุ่มสมุนไพรในจังหวัดชัยภูมิ ได้แก่ กลุ่มวิสาหกิจชุมชนกลุ่มสมุนไพรเพื่อสุขภาพ บ้านท่าทางเกวียน รหัสทะเบียน 73611209/10013 ตำบลท่ามะไฟหวาน อำเภอแก้งคร้อ จังหวัดชัยภูมิ และกลุ่มวิสาหกิจชุมชนวิถีไทบ้านไทรงาม รหัสทะเบียน 4-36-01-09/1-0061 ตำบลนาเสียว อำเภอเมืองชัยภูมิ จังหวัดชัยภูมิ ซึ่งทั้งสองกลุ่มนี้เป็นแหล่งที่มีการใช้พื้นที่ปลูกและรวบรวมพันธุ์เพื่อการอนุรักษ์ด้วย

2. การขยายพันธุ์พืชวงศ์ขิงที่หายากและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2.1 การเตรียมอาหาร

อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อคืออาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) (Murashige and Skoog, 1962) [10] สำเร็จรูป (PhytoTechnology Laboratories, LLC™) ซึ่งประกอบด้วยธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง เหล็ก วิตามิน น้ำตาลซูโครส 30 กรัม/ลิตร และเติมฮอร์โมนพืชตามวัตถุประสงค์ของแต่ละการทดลองการทดลอง โดยเตรียมทั้งอาหารแข็งและอาหารเหลว และนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อไป

2.2 การเปรียบเทียบการฟอกฆ่าเชื้อตัวอย่างพืช

นำตาเหง้าตัวอย่างพืชที่ได้จากสภาพธรรมชาติมาล้างด้วยน้ำประปาไหลผ่านเป็นเวลา 30 นาที ล้างด้วยซันไลต์ใช้พู่กันปัดเศษดินหรือสิ่งสกปรกออกและล้างน้ำให้สะอาด จากนั้นนำไปฉีดพ่นด้วยแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 1 นาที นำไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Clorox) และหยด Tween 20 ลงไป 1-2 หยด เขย่าเป็นครั้งคราว โดยเปรียบเทียบการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย Clorox ที่ระดับความเข้มข้น (10-20%) และระยะเวลาที่แช่สารละลาย Clorox (10-15 นาที) ที่แตกต่างกัน รวม 4 วิธี จากนั้น ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 5 ครั้ง แล้วตัดตาเหง้าให้มีขนาดประมาณ 0.5x0.5 เซนติเมตร นำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร วิธีละ 10 ซ้ำ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ

2.3 ทดสอบผลของฮอร์โมนพืชจากแบคทีเรียเอนโดไฟต์ร่วมกับฮอร์โมนทางการค้าที่มีต่อการชักนำให้เกิดยอดและรากจากเนื้อเยื่อพืชวงศ์ขิงที่หายากและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

2.3.1 การเตรียมฮอร์โมนพืชจากแบคทีเรียเอนโดไฟต์

แบคทีเรียเอนโดไฟต์ที่ใช้ในการทดลองนี้ คือ ไอโซเลต ZCK-8 ซึ่งแยกจากพืชวงศ์ขิงในโครงการอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อการขยายพันธุ์และการอนุรักษ์ ระหว่างวันที่ 5 -9 กันยายน พ.ศ. 2564 คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏชัยภูมิ ซึ่งมีคุณสมบัติในการผลิตฮอร์โมนพืชกลุ่มออกซินได้ จึงเก็บไอโซเลต ZCK-8 ไว้ใน stock culture ของอาจารย์ ดร.กุลวดี คตชนะเลขา ที่คณะศิลปศาสตร์และคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏชัยภูมิ ตรวจสอบการสร้างฮอร์โมน IAA ของไอโซเลต ZCK-8 โดยเลี้ยงเชื้อใน Nutrient Broth ที่เติม 0.1% (v/v) L-tryptophan บ่มเขย่าที่ 30 องศาเซลเซียส จากนั้นนำสารแขวนลอยเชื้อมาปั่นเหวี่ยง ที่ 10,000 รอบต่อ

นาที เพื่อนำส่วนใสมาตรวจปริมาณของ IAA ด้วย Salkowski reagent (35% $HClO_4$, $FeCl_3$) โดยหาปริมาณของ IAA ที่ไอโซเลต ZCK-8 ผลิตได้เมื่อบ่มเป็นเวลา 0, 1, 2 และ 3 วัน ตามวิธีการของ Lipková et al. (2021) [11]

2.3.2 ผลของฮอร์โมน TDZ และ IAA จากไอโซเลต ZCK-8 ในการเพิ่มจำนวนยอดและรากของตัวอย่างพืช

นำหน่ออ่อนตัวอย่างพืชขนาด 1 เซนติเมตร ไม่มีรากที่อยู่ในขวดเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน IAA จากไอโซเลต ZCK-8 ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกลักษณะการเจริญเติบโต จำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนราก และความยาวราก

2.3.3 ผลของชนิดอาหารต่อการเพิ่มจำนวนยอดและรากของตัวอย่างพืช

นำหน่ออ่อนตัวอย่างพืชขนาด 1 เซนติเมตร ไม่มีรากที่อยู่ในขวดเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ มาผ่าตามยาวและไม่ผ่าตามยาว นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวและอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA จากไอโซเลต ZCK-8 ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงวิธีละ 9 ซ้ำ เป็นเวลา 6 สัปดาห์ บันทึกลักษณะการเจริญเติบโต จำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนราก และความยาวราก

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้วิธี One-way ANOVA เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละหน่วยทดลองด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 28.0

ผลการวิจัย

1. การสำรวจรวบรวมแหล่งพันธุกรรมพืชวงศ์ขิงที่หายากและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจภายในจังหวัดชัยภูมิ

จากการศึกษาเอกสารงานวิจัย ออกสำรวจ และเก็บตัวอย่างพืชวงศ์ขิงในพื้นที่กลุ่มวิสาหกิจชุมชนกลุ่มสมุนไพรในจังหวัดชัยภูมิ ได้แก่ กลุ่มวิสาหกิจชุมชนกลุ่มสมุนไพรเพื่อสุขภาพ บ้านท่าทางเกวียน และกลุ่มวิสาหกิจชุมชนวิถีไทบ้านไทรงาม พบว่า มีการปลูกและรวบรวมพันธุกรรมพืชวงศ์ขิง ทั้งหมด 4 สกุล 8 ชนิด ได้แก่ ขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) ไพล (*Zingiber cassumunar* Roxb.) ข่า (*Alpinia galanga* (L.) Willd.) กระชาย (*Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf.) ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) ขมิ้นขาว (*Curcuma mangga* Valeton and Zijp.) บัวสวรรค์หรือปทุมมา (*Curcuma alismatifolia*) และกระเจียวขาว (*Curcuma parviflora*) เมื่อพิจารณาแบ่งกลุ่มตามการใช้ประโยชน์ แบ่งได้เป็นกลุ่มต่าง ๆ ดังนี้ 1. กลุ่มสมุนไพรที่ใช้สกัดน้ำมันหอมระเหย 2 ชนิด คือ กระชาย และขมิ้นชัน 2. กลุ่มสมุนไพรต้านสารอนุมูลอิสระ 4 ชนิด คือ ข่า ขมิ้นชัน ขมิ้นขาว ไพล 3. กลุ่มสมุนไพรเสริมภูมิคุ้มกัน 4 ชนิด คือ กระชาย ขิง ข่า ขมิ้นชัน และ 4. กลุ่มไม้ดอกไม้ประดับ 2 ชนิด คือ บัวสวรรค์หรือปทุมมา และกระเจียวขาว เนื่องจากพืชวงศ์ขิงส่วนใหญ่เจริญเติบโตได้ดีในที่มีแสงแดดส่องถึงอย่างน้อยครึ่งวันในช่วงเช้า บางชนิดชอบแสงแดดจัดทั้งวัน ทำให้พืชเหล่านี้จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ขิง ข่า กระชาย ไพล ขมิ้นชัน ขมิ้นขาว เป็นพืชวงศ์ขิงหลักที่พบมากและเป็นพันธุ์ที่ปลูกและรวบรวมพันธุ์มาเป็นเวลานาน โดยชอบขึ้นบริเวณดินร่วนโดยเฉพาะบริเวณที่ชื้นตามข้างทางหรือปลูกบริเวณชุมชน และพืชวงศ์ขิงที่พบตามธรรมชาติ 2 ชนิด ได้แก่ บัวสวรรค์และกระเจียวขาว แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยาและและการประเมินสถานะด้านการอนุรักษ์จาก The International Union for Conservation of Nature's Red List of Threatened Species (IUCN Red List) ตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการประเมินสถานะด้านการอนุรักษ์

พืชวงศ์ขิง	**ลักษณะทางสัณฐานวิทยา**	**สถานะด้านการอนุรักษ์**
ขิง (*Zingiber officinale* Roscoe)	ไม้ล้มลุก มีเหง้าใต้ดิน สีน้ำตาลแกมเหลือง เนื้อในสีนวล มีกลิ่นเฉพาะ จะแทงหน่อหรือลำต้นเทียมขึ้นมาเหนือพื้นดิน ใบ เป็นใบเดี่ยว ออกเรียงสลับ รูปขอบขนาน แกมรูปใบหอก กว้าง 1.5-2 เซนติเมตร ยาว 15-20 เซนติเมตร ขอบใบเรียบ แผ่นใบสีเขียวเข้มเป็นมัน ดอก ออกเป็นช่อ แทงออกจากเหง้าใต้ดิน ใบประดับเรียงเวียนสลับสีเขียวอ่อน ดอกสีเหลืองแกมเขียว ผล เป็นผลแห้ง ทรงกลม ขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร เป็น 3 พู เมล็ดหลายเมล็ด	ข้อมูลไม่เพียงพอ (Data Deficient; DD)
ไพล (*Zingiber cassumunar* Roxb.)	ไม้ล้มลุกสูง 0.7-1.5 เมตร มีเหง้าใต้ดิน เปลือกสีน้ำตาลแกมเหลือง เนื้อในสีเหลืองถึงเหลืองแกมเขียว แทงหน่อหรือลำต้นเทียมขึ้นเป็นกอ ซึ่งประกอบด้วยกาบหรือโคนใบหุ้มซ้อนกัน ใบเดี่ยว เรียงสลับ รูปขอบขนานแกมใบหอก กว้าง 3.5-5.5 เซนติเมตร ยาว 18-35 เซนติเมตร ดอกช่อ แทงจากเหง้าใต้ดิน กลีบดอกสีนวล ใบประดับสีม่วง ผลเป็นผลแห้งรูปกลม	ข้อมูลไม่เพียงพอ (Data Deficient; DD)
ข่า (*Alpinia galanga* (L.) Willd.)	ไม้ล้มลุก สูง 1.5-2 เมตร เหง้ามีข้อและปล้องชัดเจน ใบเดี่ยว เรียงสลับ รูปใบหอก รูปวงรีหรือเกือบขอบขนาน กว้าง 7-9 เซนติเมตร ยาว 20-40 เซนติเมตร ดอกช่อ ออกที่ยอด ดอกย่อยขนาดเล็ก กลีบดอกสีขาว โคนติดกันเป็นหลอดสั้น ๆ ปลายแยกเป็น 3 กลีบ กลีบใหญ่ที่สุดมีริ้วสีแดง ใบประดับรูปไข่ ผล เป็นผลแห้งแตกได้ รูปกลม	พืชที่ยังไม่ถูกคุกคาม (Least Concerned; LC)
กระชาย (*Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf.)	ไม้ล้มลุก มีเหง้าสั้น แตกหน่อได้ รากอวบ รูปทรงกระบอกหรือรูปไข่ค่อนข้างยาว ปลายเรียว กว้าง 1-2 เซนติเมตร ยาว 4-10 เซนติเมตร ออกเป็นกระจุก ผิวสีน้ำตาลอ่อน เนื้อในสีเหลือง มีกลิ่นเฉพาะตัว ส่วนที่อยู่เหนือดินเป็นใบ มี 2-7 ใบ ใบเดี่ยว เรียงสลับ รูปรี กว้าง 5-12 เซนติเมตร ยาว 12-50 เซนติเมตร ปลายเรียวแหลม โคนมนหรือแหลม ขอบเรียบ เส้นกลางใบ ก้านใบ และกาบใบด้านบนเป็นร่อง ด้านล่างนูนเป็นสัน ก้านใบเรียบ ยาว 7-25 เซนติเมตร กาบใบสีชมพู ยาว 7-25 เซนติเมตร ระหว่างก้านใบและกาบใบมีลิ้นใบ ช่อดอกแบบช่อเชิงลด ออกที่ยอดระหว่างกาบใบคู่ในสุด ยาวประมาณ 5 เซนติเมตร แต่ละดอกมีใบประดับ 2 ใบ สีขาวหรือขาวอมชมพูอ่อน รูปใบหอก กว้างประมาณ 8 มม. ยาว 3.5-4.5	พืชที่ยังไม่ถูกคุกคาม (Least Concerned; LC)

พืชวงศ์ขิง	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา	สถานะด้านการอนุรักษ์
	เซนติเมตร กลีบเลี้ยงสีขาวหรือขาวอมชมพูอ่อน โคนติดกันเป็นหลอด ยาวประมาณ 1.7 เซนติเมตร ปลายแยกเป็น 3 แฉก กลีบดอกสีขาวหรือขาวอมชมพูอ่อน โคนติดกันเป็นหลอด ยาวประมาณ 6 เซนติเมตร ปลายแยกเป็น 3 กลีบ รูปใบหอก ขนาดไม่เท่ากัน กลีบใหญ่ 1 กลีบ กว้างประมาณ 7 มม. ยาวประมาณ 1.8 เซนติเมตร อีก 2 กลีบ ขนาดเท่ากัน กว้างประมาณ 5 มม. ยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร เกสรเพศผู้ 6 อัน แต่ 5 อัน เปลี่ยนไปมีลักษณะเหมือนกลีบดอก โดย 2 กลีบบนสีชมพู รูปไข่กลับ ขนาดเท่ากัน กว้างประมาณ 1.2 เซนติเมตร ยาวประมาณ 1.7 เซนติเมตร อีก 3 กลีบล่างสีชมพูติดกันเป็นกระพุ้ง กว้างประมาณ 2 เซนติเมตร ยาวประมาณ 2.7 เซนติเมตร ปลายแผ่กว้างประมาณ 2.5 เซนติเมตร มีสีชมพูหรือม่วงแดงเป็นเส้น ๆ อยู่เกือบทั้งกลีบโดยเฉพาะอย่างยิ่งตรงกระเปาะและปลายกลีบ มีเกสรเพศผู้ที่สมบูรณ์ 1 อัน ก้านชูอับเรณูหุ้มก้านเกสรเพศเมีย ผลแก่แตกเป็น 3 เสี่ยง เมล็ดค่อนข้างใหญ่	
ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.)	ไม้ล้มลุก อายุหลายปี สูง 30-90 เซนติเมตร เหง้าใต้ดินรูปไข่มีแขนง รูปทรงกระบอกแตกออกด้านข้าง 2 ด้าน ตรงกันข้ามเนื้อในเหง้าสีเหลืองส้ม มีกลิ่นเฉพาะ ใบ เดี่ยว แทงออกมาเหง้าเรียงเป็นวงซ้อนทับกันรูปใบหอก กว้าง 12-15 เซนติเมตร ยาว 30-40 เซนติเมตร ดอก ช่อ แทงออกจากเหง้า แทรกขึ้นมาระหว่างก้านใบ รูปทรงกระบอก กลีบดอกสีเหลืองอ่อน ใบประดับสีเขียวอ่อนหรือสีนวล บานครั้งละ 3-4 ดอก ผล รูปกลมมี 3 พู	ข้อมูลไม่เพียงพอ (Data Deficient; DD)
ขมิ้นขาว (*Curcuma mangga* Valeton and Zijp.)	ไม้ล้มลุก หัวรูปไข่ ขนาด 3-4 X 2-3 เซนติเมตร ภายในมีสีขาวบริเวณแกนกลางหัวมีสีเหลืองอ่อนจนเกือบขาว เหง้าแตกสาขา หนาประมาณ 1.5 เซนติเมตร สีขาวส่วนแกนกลางสีเหลือง ส่วนหัวและเหง้ามีกลิ่นคล้ายมะม่วง ส่วนเหนือดินสูง 60-80 เซนติเมตร ใบรูปรี สีเขียวทั้งใบ ผิวใบเกลี้ยงทั้ง 2 ด้าน ช่อดอกเกิดจากเหง้าส ก้านช่อยาวประมาณ 20 เซนติเมตร ช่อดอก ยาว 25-30 เซนติเมตร ใบประดับ สีขาวอมเขียวส่วนปลายแต้มสีเขียว ใบประดับส่วนยอด สีขาวปลายแต้มสีชมพู กลีบดอกและสเตมิโนดมีสีขาว สเตมิโนดรูปไข่กลับ ปลายมน มีต่อมขน กลีบปาก สีเหลืองและมีแถบเหลืองเข้มทาบตามแนวเส้นกลางแผ่น มีต่อมขนขนาบ 2 ข้างเส้นกลางแผ่น อับเรณูมีเดือยเป็นแผ่น	ข้อมูลไม่เพียงพอ (Data Deficient; DD)

พืชวงศ์ขิง	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา	สถานะด้านการอนุรักษ์
	สามเหลี่ยมแบน ปลายเรียวแหลม ชี้ลง ยาวประมาณ 3 มม. รังไข่ยาวประมาณ 3 มม. ผิวมีขน	
บัวสวรรค์หรือปทุมมา (*Curcuma alismatifolia*)	ไม้ล้มลุก มีเหง้า สูง 60-90 เซนติเมตร ใบ เดี่ยว รูปรีแกมขอบขนาน กว้าง 10-15 เซนติเมตร ยาว 18-25 เซนติเมตร ปลายและโคนใบแหลม ดอก สีขาว และสีม่วง ออกบนช่อดอกสีชมพู ซึ่งเกิดจากใบประดับ เรียงเวียน ซ้อนกันแน่น ใบประดับด้านล่างสีเขียวอมชมพู ด้านบนมีขนาด ใหญ่กว่า สีชมพูสด กลีบรองดอกรูปกรวย ยาว 8-12 มม. กลีบดอก เป็นหลอด ยาว 15-18 มม. ปลายแยกเป็น 3 แฉก รูปขอบขนาน ผิวเกลี้ยง กลีบปากยาวประมาณ 2.8 เซนติเมตร กว้างประมาณ 1.5 เซนติเมตร สีขาวหรือม่วง ตรงกลางกลีบบริเวณโคนมีประสีเหลือง เกสรผู้ อันเดียว อับเรณูยาว 7-8 มม. บริเวณโคนมีเดือยสั้น รังไข่ผิวเกลี้ยง ผล รูปไข่ ผิวเกลี้ยง	ใกล้ถูกคุกคาม (Near Threatened; NT)
กระเจียวขาว (*Curcuma parviflora*)	ไม้ล้มลุก สูง 30-40 เซนติเมตร มีเหง้ากลม ขนาด 1.5-2 เซนติเมตร ใบเดี่ยว ต้นหนึ่งมี 4 ใบ ออกจากเหง้าชูขึ้นมาเหนือพื้นดิน 2 ใบพร้อมกันก่อน ใบที่ 3 และ 4 ออกพร้อมช่อดอก ใบรูปขอบขนาน กว้างประมาณ 7 เซนติเมตร ยาวประมาณ 20 เซนติเมตร ปลายแหลม โคนมน ก้านใบยาวประมาณ 10 เซนติเมตร ช่อดอกกว้างประมาณ 2 เซนติเมตร ยาว 8-10 เซนติเมตร ใบประดับเรียงซ้อนกัน โคนติดกันเป็นกรวย ใบประดับตอนโคนช่อสีเขียว มีดอกตามซอก ตอนปลายช่อสีขาว ยาวกว่าเล็กน้อย ไม่มีดอก ก้านช่อดอกยาวประมาณ 15 เซนติเมตร ดอกเล็ก สีขาว เป็นหลอดยาวประมาณ 2 เซนติเมตร ปลายกลีบปากจัก สีม่วง และมีเส้นสีม่วงพาดตามยาวอยู่ด้านใน	ไม่แสดงผลใน IUCN Red List

จากการศึกษาข้อมูลจาก IUCN Red List พบ 4 ชนิด คือ ขิง ไพล ขมิ้นชันและขมิ้นขาว ที่มีสถานการณ์อนุรักษ์เป็นข้อมูลไม่เพียงพอ (Data Deficient; DD) หมายถึง ชนิดพันธุ์ที่มีข้อมูลไม่เพียงพอที่จะวิเคราะห์ถึงความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์โดยตรงหรือโดยอ้อม ชนิดพันธุ์กลุ่มนี้มีความจำเป็นต่อการจัดหาความรู้เพิ่มเติมจากการศึกษาวิจัยในอนาคต ทั้งนี้ พืชทั้ง 4 ชนิด เป็นพืชสวนครัวที่สามารถปลูกได้ง่ายทั่วทุกภาคของประเทศ ปัญหาของโรคแมลงรบกวนน้อย และปัจจุบันมีความต้องการใช้พืช 4 ชนิดนี้มากขึ้นทั้งภายในและภายนอกประเทศ จึงมีการปลูกเพื่อใช้ประกอบอาหารและเป็นยาสมุนไพรมากขึ้น ทำให้ยังไม่พบข้อมูลเกี่ยวกับความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ ส่วนอีก 2 ชนิด คือ ข่า และกระชาย มีสถานะการอนุรักษ์เป็นพืชที่ยังไม่ถูกคุกคามและพบเห็นอยู่ทั่วไป (Least Concerned; LC) คล้ายคลึงกับงานวิจัยของ Phechphakdee et al. (2020) [12] ที่ระบุว่า ขิงป่า ไพล ขมิ้น และข่า เป็นพืชอาหารและสมุนไพร โดยไม่ได้ระบุสถานะด้านการอนุรักษ์ สำหรับกระชาย ก็ระบุว่าเป็นพืชสมุนไพรอาหารสถานะด้านการอนุรักษ์เป็น LC เช่นกัน ในขณะที่บัวสวรรค์หรือปทุมมา มีสถานะการอนุรักษ์เป็นพืชที่

ใกล้ถูกคุกคาม (Near Threatened; NT) หมายถึง หมายถึง ชนิดพันธุ์ที่มีแนวโน้มอาจถูกคุกคามในอนาคตอันใกล้ เนื่องจากปัจจัยต่าง ๆ ยังไม่มีผลกระทบมาก ที่น่าสนใจคือ มีเพียงกระเจียวขาว (*Curcuma parviflora*) 1 ชนิดเท่านั้นที่ไม่พบข้อมูลสถานภาพของชนิดพันธุ์ โดยใช้หลักเกณฑ์การจำแนก จาก IUCN Red List และ Threatened Plants in Thailand แสดงว่า กระเจียวขาว (*C. parviflora*) ยังไม่ได้รับการประเมินสถานะการอนุรักษ์ในระดับสากลหรือในประเทศไทยอย่างเป็นทางการ แต่เนื่องจากเป็นพืชที่มีการใช้ประโยชน์หลากหลายและมีถิ่นกำเนิดเฉพาะในประเทศไทย การศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการกระจายพันธุ์และความเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์จึงมีความสำคัญ เพื่อวางแผนการอนุรักษ์อย่างเหมาะสมต่อไป นอกจากนี้ กระเจียวขาว (*C. parviflora*) เป็นพืชพื้นเมืองของประเทศไทยในวงศ์ขิง (Zingiberaceae) ที่มีศักยภาพทางเศรษฐกิจในหลายด้าน ได้แก่ การบริโภค การใช้ประโยชน์เป็นไม้ประดับ และการใช้ประโยชน์ทางด้านเภสัชกรรม กล่าวคือ ในด้านการบริโภค พืชชนิดนี้มีการนำใบอ่อนและดอกมาใช้เป็นผักพื้นบ้าน โดยนิยมปรุงร่วมกับน้ำพริกหรืออาหารพื้นเมืองต่าง ๆ ซึ่งพบได้ทั้งในประเทศไทยและประเทศใกล้เคียง โดยเฉพาะในกลุ่มชาติพันธุ์ที่พึ่งพาพืชป่าเพื่อการดำรงชีวิต (National Parks Board Singapore, n.d.) [13] ในด้านการใช้ประโยชน์เชิงไม้ประดับ ดอกของ *C. parviflora* มีลักษณะสวยงาม สีขาวอมชมพูอ่อน และมีรูปร่างคล้ายดอกทิวลิป ทำให้ได้รับความนิยมในตลาดไม้ประดับของไทย โดยเฉพาะในช่วงฤดูฝนซึ่งเป็นช่วงที่ดอกบานสะพรั่งและส่งเสริมการท่องเที่ยวเชิงอนุรักษ์ในแหล่งธรรมชาติที่มีพืชชนิดนี้ขึ้นอยู่ (National Parks Board Singapore, n.d.) [13] สำหรับด้านเภสัชกรรม มีการศึกษาพบว่า *C. parviflora* มีสารประกอบสำคัญในกลุ่ม sesquiterpenoids ซึ่งรวมถึงสาร parviflorenes A, B, D, F และ G ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็งในหลอดทดลอง และแสดงศักยภาพในการพัฒนาเป็นสารต้นแบบสำหรับผลิตภัณฑ์ยาในอนาคต (Toume et al., 2005) [14] จากการใช้ประโยชน์ที่หลากหลายดังกล่าว *C. parviflora* จึงถือเป็นพืชที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจสูง และควรได้รับการส่งเสริมในด้านการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนควบคู่กับการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชในถิ่นกำเนิด ผู้วิจัยจึงได้คัดเลือกว่าเป็นพืชที่หายากและมีความต้องการของตลาดสูง เหมาะสมที่จะส่งเสริมคุณค่าทางเศรษฐกิจเพื่อนำไปใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อไป

2. การขยายพันธุ์พืชวงศ์ขิงที่หายากและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2.1 การเปรียบเทียบการฟอกฆ่าเชื้อตัวอย่างพืช

จากการเปรียบเทียบวิธีการฟอกฆ่าเชื้อจากชิ้นส่วนตาเหง้าตัวอย่างพืชที่ได้จากสภาพธรรมชาติในสารละลาย Clorox ที่ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาที่แช่สารละลาย Clorox แตกต่างกัน จากนั้นนำตาเหง้าที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนตาเหง้าที่ฟอกฆ่าเชื้อทั้ง 4 วิธีมีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อใกล้เคียงกัน แสดงผลดังตารางที่ 2 จึงได้เลือกใช้วิธีที่ 2 ฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 1 ด้วยโซเดียมไฮโปรคลอไรท์ 20% เวลา 10 นาที และฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 2 ด้วยโซเดียมไฮโปรคลอไรท์ 10% เวลา 10 นาที ที่มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ 96% ไปใช้ในการทดลองต่อไป เนื่องจากระยะเวลาที่ใช้น้อยกว่า วิธีที่ 3 และ 4 แต่มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อไม่ต่างกัน

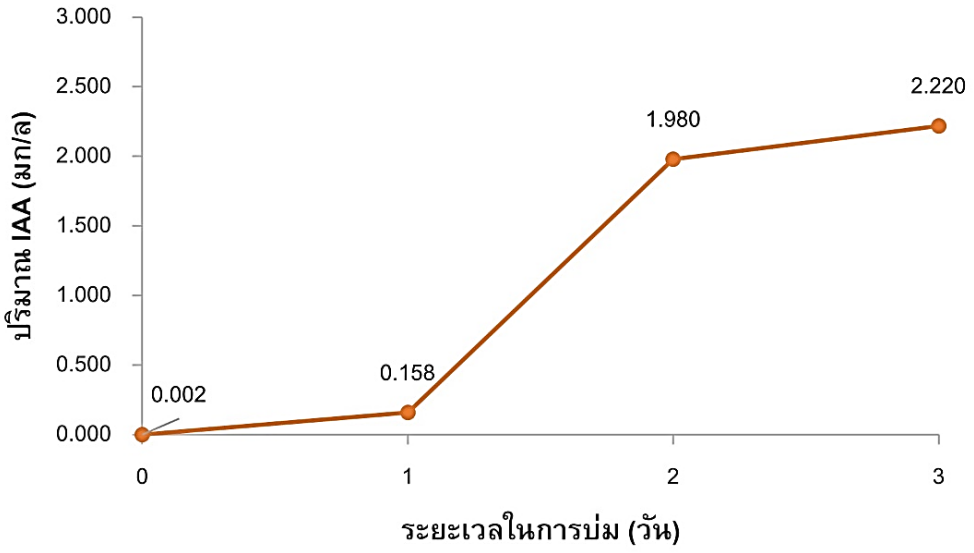
ตารางที่ 2 การฟอกฆ่าเชื้อตัวอย่างเหง้าพืชด้วยสารละลาย Clorox ที่มีความเข้มข้นและใช้เวลาในการฟอกแตกต่างกัน

วิธีที่	ฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่	ความเข้มข้นของ สารละลาย Clorox (%)	ระยะเวลาในการฟอก (นาที)	เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ (%)
1	1	15	10	95
	2	10	10	
2	1	20	10	96
	2	10	10	
3	1	15	15	96
	2	10	10	
4	1	20	15	97
	2	10	10	

2.2 ผลของฮอร์โมนพืชจากแบคทีเรียเอนโดไฟต์ร่วมกับฮอร์โมนทางการค้าที่มีต่อการชักนำให้เกิดยอดและรากจากเนื้อเยื่อพืชวงศ์ขิงที่หายากและมีคุณค่าทางเศรษฐกิจที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

2.2.1 การเตรียมฮอร์โมนพืชจากแบคทีเรียเอนโดไฟต์

เมื่อเลี้ยงเชื้อไอโซเลต ZCK-8 ในอาหาร NB ที่เติม 0.1% (v/v) ทริปโตแฟน บ่มที่อุณหภูมิ 30°C เพื่อหาปริมาณของ IAA ที่ไอโซเลต ZCK-8 ผลิตได้เมื่อบ่มเป็นเวลา 0, 1, 2 และ 3 วัน พบว่า ไอโซเลต ZCK-8 สามารถผลิต IAA ได้มากที่สุด เท่ากับ 2.220 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อบ่มเป็นเวลา 3 วันดังภาพที่ 1 จึงเลือกการบ่มเชื้อ 3 วันสำหรับการทดลองต่อไป



ภาพที่ 1 ปริมาณของ IAA (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่ไอโซเลต ZCK-8 ผลิตได้เมื่อบ่มที่ระยะเวลาแตกต่างกัน

2.2.2 ผลของฮอร์โมน TDZ และ IAA จากไอโซเลต ZCK-8 ในการเพิ่มจำนวนยอดและรากของตัวอย่างพืช

จากการนำหน่ออ่อนตัวอย่างพืชขนาด 1 เซนติเมตร ไม่มีรากที่อยู่ในขวดเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน IAA จากไอโซเลต ZCK-8 ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ต้นอ่อนในอาหาร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนเลย และที่เติมฮอร์โมน TDZ อย่างเดียวที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน IAA จากไอโซเลต ZCK-8 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ต้นอ่อนเกิดยอด ร้อยละ 100 ซึ่งสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน IAA จากไอโซเลต ZCK-8 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 2.25 ยอด/ชิ้นส่วนพืช นอกจากนี้ยังพบว่า สูตรอาหาร MS ที่เติมฮอร์โมน IAA จากไอโซเลต ZCK-8 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนพืชเกิดราก ร้อยละ 100 สูตรอาหารที่เติม IAA จากไอโซเลต ZCK-8 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว ทำให้ชิ้นส่วนพืชมีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 6.32 ราก/ชิ้นส่วนพืช และมีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 2.47 เซนติเมตร ผลแสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลของฮอร์โมน TDZ และ IAA จากไอโซเลต ZCK-8 ในการเพิ่มจำนวนยอดและรากของตัวอย่างพืช

กรรมวิธีที่	ความเข้มข้นของ IAA จากไอโซเลต ZCK-8 (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ความเข้มข้นของ TDZ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ร้อยละการเกิดยอด ร้อยละ	ร้อยละการเกิดราก ร้อยละ	การเจริญเติบโตของตัวอย่างพืชเฉลี่ย			
					จำนวนยอด (ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวยอด (เซนติเมตร)	จำนวนราก (ราก/ชิ้นส่วนพืช)	ความยาวราก (เซนติเมตร)
1	0	0	100	46.33	1.33±0.12^{b}	2.01±0.22^{b}	2.77±0.17^{d}	1.56±0.45^{a}
2	0	1	100	66.67	1.50±0.24^{b}	2.55±0.34^{a}	3.63±0.33^{c}	2.00±0.88^{a}
3	0.1	0	66.67	50.00	1.33±0.17^{b}	1.33±0.18^{c}	6.32±0.24^{a}	2.47±0.70^{a}
4	0.1	1	100	100	2.25±0.43^{a}	2.66±0.16^{a}	5.03±0.20^{b}	2.32±0.91^{a}

หมายเหตุ: อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

2.2.3 ผลของชนิดอาหารต่อการเพิ่มจำนวนยอดและรากของตัวอย่างพืช

เมื่อนำหน่ออ่อนตัวอย่างพืชขนาด 1 เซนติเมตร ซึ่งไม่มีรากที่อยู่ในขวดเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อมาผ่าตามยาวและไม่ผ่าตามยาว นำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวและอาหารแข็งสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA จากไอโซเลต ZCK-8 ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า หน่ออ่อนตัวอย่างพืชที่ไม่ผ่าตามยาวสามารถเกิดยอดอ่อนได้ ร้อยละ 100 ทั้งในอาหารแข็งและอาหารเหลว โดยต้นอ่อนที่เจริญในอาหารแข็งมีจำนวนยอด และจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 3.35 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และ 2.50 ราก/ชิ้นส่วนพืช ตามลำดับ ในขณะที่ต้นอ่อนที่เจริญในอาหารเหลวมีความยาวยอดและความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 3.22 และ 1.46 เซนติเมตรตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลของชนิดอาหารต่อการเพิ่มจำนวนยอดและรากของตัวอย่างพืชในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA จากไอโซเลต ZCK-8 ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ชนิดอาหาร	การแบ่งเนื้อเยื่อตามยาว	ร้อยละการเกิดยอด	จำนวนยอดเฉลี่ย	ความยาวยอดเฉลี่ย	จำนวนรากเฉลี่ย	ความยาวรากเฉลี่ย
		ร้อยละ	(ยอด/ชิ้นส่วนพืช)	(เซนติเมตร)	(ราก/ชิ้นส่วนพืช)	(เซนติเมตร)
อาหารแข็ง	ผ่า	83.33	3.15±0.14[a]	1.22±1.05[b]	1.67±2.24[b]	0.63±0.54[b]
	ไม่ผ่า	100	3.35±0.23[a]	1.83±0.66[b]	2.5±2.50[a]	0.66±0.64[b]
อาหารเหลว	ผ่า	33.33	0.56±0.20[b]	1.33±0.58[b]	0.00±0.00[c]	0.00±0.00[c]
	ไม่ผ่า	100	3.22±0.30[a]	3.22±0.54[a]	1.67±2.61[b]	1.46±0.96[a]

หมายเหตุ: อักษรที่แตกต่างกันทางแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ DMRT

สรุปและอภิปรายผล

ผลจากงานวิจัยนี้ สำรวจพบพืชวงศ์ขิง ทั้งหมด 4 สกุล 8 ชนิด ได้แก่ ขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) ไพล (*Zingiber cassumunar* Roxb.) ข่า (*Alpinia galanga* (L.) Willd.) กระชาย (*Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf.) ขมิ้นชัน (*Curcuma longa* L.) ขมิ้นขาว (*Curcuma mangga* Valeton and Zijp.) บัวสวรรค์หรือปทุมมา (*Curcuma alismatifolia*) และกระเจียวขาว (*Curcuma parviflora*) โดยผู้วิจัยเลือกกระเจียวขาว (*Curcuma parviflora*) มาศึกษา เนื่องจากไม่พบข้อมูลสถานภาพของชนิดพันธุ์ โดยใช้หลักเกณฑ์การจำแนก จาก IUCN Red List และ Threatened Plants in Thailand

ในการทดลองต่อไปเป็นศึกษาผลของฮอร์โมน IAA จากแบคทีเรียเอนโดไฟต์ ไอโซเลต ZCK-8 ต่อการเจริญของกระเจียวขาว (*C. parviflora)* ด้วยเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ซึ่งอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นจะประกอบด้วยธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารรอง เหล็ก วิตามิน น้ำตาลซูโครส ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญในการเจริญเติบโตของพืชทุกระยะ นอกจากนี้การเลือกใช้ฮอร์โมนพืช มีความสำคัญอย่างยิ่งในการกระตุ้นการสร้างอวัยวะพืช (organogenesis) หรือกระบวนการเกิดต้นใหม่ (shoot induction) และการเจริญของราก ซึ่งสองกลุ่มฮอร์โมนสำคัญที่มักใช้ร่วมกัน คือ Thidiazuron (TDZ) และ Indole-3-acetic acid (IAA) โดยที่การใช้ IAA ร่วมกับ cytokinin เช่น TDZ จะช่วยปรับสมดุล auxin : cytokinin ซึ่งมีผลต่อชนิดของอวัยวะที่สร้างขึ้นดังนั้น ฮอร์โมนทั้ง 2 ชนิดนี้มีความสัมพันธ์เชิงกลไกในการส่งเสริมการเจริญของพืช งานวิจัยหลายชิ้นพบว่า การใช้ TDZ เพียงอย่างเดียว ในความเข้มข้น 0.5–2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถกระตุ้นการเกิดต้นอ่อนจำนวนมากจากชิ้นเนื้อใบหรือเหง้าได้ อย่างไรก็ตาม เมื่อ เติม IAA ร่วมในสูตร (เช่น 0.1–0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) จะช่วยเพิ่มขนาดต้นอ่อน และป้องกันการเกิดแคระแกร็นที่มักพบเมื่อใช้ TDZ เดี่ยว ๆ หลังจากต้นอ่อนเจริญดีแล้ว จำเป็นต้องกระตุ้นการยืดตัวและสร้างราก ซึ่งต้องใช้ IAA หรือ auxin อื่น เพื่อกระตุ้นกระบวนการดังกล่าว แต่หากใช้ TDZ นานเกินไป อาจยับยั้งการสร้างราก จึงต้องล้าง TDZ ออก และเปลี่ยนไปใช้สูตรที่มี auxin เด่นชัด เช่น IAA 0.5–1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อกระตุ้นการออกราก ดังนั้น ผู้วิจัยจึงกำหนดค่าความเข้มข้นของฮอร์โมนพืชให้คลอบคลุมช่วงดังกล่าว

โดยเมื่อทดลองใช้อาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ และ IAA จากไอโซเลต ZCK-8 (1:0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่า สามารถชักนำให้ต้นอ่อนเกิดยอด ร้อยละ 100 และมีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 2.25 ยอด/ชิ้นส่วนพืช เช่นเดียวกันกับงานวิจัยของ Muangsan et al. (2018) [15] ซึ่งทดลองเพาะเลี้ยงต้นอ่อนในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วต้นอ่อนมีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 2.50 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ทั้งนี้เนื่องจาก TDZ เป็นฮอร์โมนกลุ่มไซโทไคนิน มีผลกระตุ้นการแบ่งเซลล์ และการเกิดยอด ฮอร์โมน NAA เป็นฮอร์โมนกลุ่มออกซิน มีผลกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการเกิดราก สอดคล้องกับการทดลองของ Prathanturarug et al. (2003) [16] เพาะเลี้ยงตายอดของขมิ้นชัน ในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 18.17 μM เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จะชักนำให้เกิดยอดเฉลี่ย 2.22 ยอด/ชิ้นส่วนพืช (Zhang et al., 2011) [17] เพาะเลี้ยงตาเหง้า *C. soloensis* Val. ในอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 μM ทำให้มีจำนวนยอดเฉลี่ย 18.7 ยอด/ชิ้นส่วนพืช

จากการทดลองยังพบอีกว่า ชนิดของอาหารสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA จากไอโซเลต ZCK-8 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนยอดและรากของตัวอย่างพืช โดยหน่ออ่อนตัวอย่างพืชที่ไม่ผ่าตามยาวสามารถเกิดยอดอ่อนได้ ร้อยละ 100 ทั้งในอาหารแข็งและอาหารเหลว สำหรับต้นอ่อนที่เจริญในอาหารแข็งมีจำนวนยอด และจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 3.65 ยอด/ชิ้นส่วนพืช และ 2.66 ราก/ชิ้นส่วนพืช ตามลำดับ ในขณะที่ต้นอ่อนที่เจริญในอาหารเหลวมีความยาวยอดและความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 3.55 และ 1.69 เซนติเมตรตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องใกล้เคียงกันกับงานวิจัยของ Muangsan et al. (2018) [15] ที่นำหน่ออ่อนกระเจียวขาวที่ผ่าตามยาวและไม่ผ่าตามยาวมาเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งและอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมฮอร์โมน BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าต้นอ่อนที่ไม่ผ่าตามยาวในอาหารแข็งและอาหารเหลว สามารถชักนำให้ต้นอ่อนเกิดยอดได้มากที่สุด ร้อยละ 100 ต้นอ่อนที่ไม่ผ่าตามยาว เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งสามารถชักนำต้นอ่อนให้มีจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 3.44 ยอด/ชิ้นส่วนพืช จำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุด 4.22 ใบ/ชิ้นส่วนพืช และมีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด 2.56 ราก/ชิ้นส่วนพืช ซึ่งมีจำนวนมากกว่าเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากผลงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าฮอร์โมน IAA จากไอโซเลต ZCK-8 สามารถชักนำการเพิ่มจำนวนยอดและรากของตัวอย่างพืชได้ดีใกล้เคียงกับฮอร์โมนทางการค้า NAA หรือ IBA ได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ปีงบประมาณ 2566 ที่สนับสนุนทุนในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

[1] Larsen, K., and Larsen, S. S. (2006). *Gingers of Thailand*. Queen Sirikit Botanic Garden.

[2] Khamtang, L., Saensouk, S., Saensouk, P., and Thanonkeo, S. (2014). Species diversity utilization of Zingiberaceae in Phu Laen Kha National Park, Chaiyaphum province. *Asia-Pacific Journal of Science and Technology, 19*(6), 794-803. https://so01.tci-thaijo.org/index.php/APST/article/view/83060 (in Thai)

[3] Autaijamsripon, J., Jirakiattikul, Y., and Rithichai, P. (2018). Effect of plant growth regulators on in vitro shoot multiplication and root induction of *Ocimum sanctum* L. (Holy basil purple type). *Thai Science and Technology Journal, 27*(4), 630-638. https://doi.org/10.14456/tstj.2019.49 (in Thai)

[4] Khan, Z., and Doty, L. S. (2009). Characterization of bacterial endophytes of sweet potato plants. *Plant and Soil, 322*, 197-207. https://doi.org/10.1007/s11104-009-9908-1

[5] Naveed, M., Mitter, B., Yousaf, S., Pastar, M., Afzal, M., and Sessitsch, A. (2014). The endophyte *Enterobacter* sp. FD17: A maize growth enhancer selected based on rigorous testing of plant beneficial traits and colonization characteristics. *Biology and Fertility of Soils, 50*, 249-262. https://doi.org/10.1007/s00374-013-0854-y

[6] Weyens, N., van der Lelie, D., Taghavi, S., Newman, L., and Vangronsveld, J. (2009). Exploiting plant–microbe partnerships to improve biomass production and remediation. *Trends in Biotechnology, 27*(10), 591-598. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2009.07.006

[7] Khianngam, S., Meetum, P., Na Chiangmai, P., and Tanasupawat, S. (2023). Identification and optimization of indole-3-acetic acid production of endophytic bacteria and their effects on plant growth. *Tropical Life Sciences Research, 34*(1), 219-239. https://doi.org/10.21315/tlsr2023.34.1.12

[8] Phurailatpam, L., Gupta, A., Sahu, P. K., & Mishra, S. (2024). Inoculation with native bacterial endophytes promote adventitious rooting and plant growth in *Piper longum* L. *Symbiosis, 93*(2), 229-240. https://doi.org/10.1007/s13199-024-01001-6

[9] Tsavkelova, E. A., Volynchikova, E. A., Potekhina, N. V., Lavrov, K. V., & Avtukh, A. N. (2024). Auxin production and plant growth promotion by *Microbacterium albopurpureum* sp. nov. from the rhizoplane of leafless *Chiloschista parishii* Seidenf. orchid. *Frontiers in Plant Science, 15*, Article 1360828. https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1360828

[10] Murashige, T., and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiology, 15*, 473-497. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x

[11] Lipková, N., Medo, J., Artimová, R., Maková, J., Petrová, J., Javoreková, S., and Michalko, J. (2021). Growth promotion of rapeseed (*Brassica napus* L.) and blackleg disease (*Leptosphaeria maculans*) suppression mediated by endophytic bacteria. *Agronomy, 11*(10), Article 1966. https://doi.org/10.3390/agronomy11101966

[12] Phechphakdee, T., Saensouk, S., and Saensouk, P. (2020). Diversity, conservation status and traditional uses of family Zingiberaceae in Nong Phok District, Roi Et Province. *Koch Cha Sarn Journal of Science*, *42*(2), 70-82. Retrieved from https://li01.tci-thaijo.org/index.php/kochasarn/article/view/253190

[13] National Parks Board Singapore. (n.d.). *Curcuma parviflora (Zingiberaceae)*. Flora Fauna Web. Retrieved June 4, 2025, from https://www.nparks.gov.sg/florafaunaweb/flora/1/9/1905

[14] Toume, K., Sato, M., Koyano, T., and Ishibashi, M. (2005). Cytotoxic dimeric sesquiterpenoids from *Curcuma parviflora*: Isolation of three new parviflorenes and absolute stereochemistry of parviflorenes A, B, D, F, and G. *Tetrahedron*, *61*(47), 11311-11321. https://doi.org/10.1016/j.tet.2005.08.072

[15] Muangsan, N., Maensiri, D., Grote, J. P., Machikowa, T., and Saensouk, P. (2018). Conservation and propagation of rare and economic plants (*Zingiberaceae*), plant genetic conservation project under the Royal Initiative of Her Royal Highness, Princess Maha Chakri Sirindhorn (RSPG) (Report No. 282817). Suranaree University of Technology. (in Thai)

[16] Prathanturarug, S., Soonthornchareonnon, N., Chuakul, W., Phaidee, Y., and Saralamp, P. (2003). High-frequency shoot multiplication in *Curcuma longa* L. using thidiazuron. *Plant Cell Reports, 21*, 1054-1059. https://doi.org/10.1007/s00299-003-0629-2

[17] Zhang, S., Liu, N., Sheng, A., Ma, G., and Wu, G. (2011). Direct and callus-mediated regeneration of *Curcuma soloensis* Valeton (Zingiberaceae) and ex vitro performance of regenerated plants. *Scientia Horticulturae, 130*(4), 899-905. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.08.038