

ผลของ 2,4-D ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสของบวบกในสภาพปลอดเชื้อ

Effect of 2,4-D on *In Vitro* Callus Induction of Asiatic Pennywort

อนุเทพ ฮั่วเจียม¹ กษิด์เดช อ่อนศรี^{1*} กันฏนา หลอดทองหลาง¹ เกศินี ศรีปฐมกุล¹ ธนัชยา เกณท์ขุนทด¹ และอภิเดช เอมเอี่ยม¹

Anuthep Haujiem¹, Kasideth Onsri^{1*}, Kantana Lodthonglang¹, Kesinee Sripathomkul¹, Tanatya Kenkhunthod¹, and Aphidet Emeam¹

¹คณะนวัตกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยรังสิต

¹Faculty of Agricultural Innovation, Rangsit University

*Corresponding author. E-mail: anuthep.h59@rsu.ac.th

บทคัดย่อ

บวบกเป็นสมุนไพรล้มลุกขนาดเล็ก ทั้งต้นมีสรรพคุณในการรักษาอาการไข้ใน ช่วยบำรุงหัวใจ ขับปัสสาวะ ลดความดันโลหิต ซึ่งการปลูกบวบกแบบปกติใช้เวลาถึง 90 วันจึงทำการเก็บเกี่ยวได้ ผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช 2,4-D ในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่สามารถชักนำให้บวบกเกิดแคลลัสในสภาพปลอดเชื้อ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ประกอบด้วย 12 ทริตเมนต์ แบ่งเป็นส่วนปล้อง และส่วนใบ เลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0 , 0.5 , 1 , 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่า ชิ้นส่วนปล้องมีแนวโน้มการตอบสนองต่ออาหารสังเคราะห์ที่เติม 2,4-D ได้ดีกว่าการชักนำด้วยชิ้นส่วนจากใบ ในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม 2,4-D ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนปล้องของบวบกเกิดแคลลัสได้มากที่สุด ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการผลิตสารสำคัญจากแคลลัสบวบกในสภาพปลอดเชื้อได้

บทนำ

บวบก (*Centella asiatica* L.) หรือ Gotu kola เป็นพืชล้มลุก มีลำต้นงอกบนผิวดิน มีราก และใบงอกตามข้อของลำต้น เป็นใบเดี่ยวรูปทรงกลม ขอบใบมีรอยหยัก ก้านใบค่อนข้างยาวเมื่อเทียบกับลำต้นสามารถพบได้ตามพื้นที่ทั่วไปในเอเชีย ถิ่นกำเนิดเดิมพบในอินโดนีเซีย อินเดีย ศรีลังกา ในประเทศไทยพบได้ทุกภาค นิยมรับประทานสดใช้เป็นผักทานแกล้มกับอาหาร เช่น ลาบ ผัดไทยและแกงเผ็ดของทางใต้ (สุภวรรณและคณะ, 2013) บวบกเป็นสมุนไพรที่มีสารกลุ่มไตรเทอปีนอยด์ไกลโคไซด์ (Triterpenoidglycoside) หลายชนิด เช่น กรดเอเชียติก (Asiatic acid) สารเอเชียติโคไซด์ (Asiaticoside) และกรดแมดิแคสซิก (Madecassic acid) หรือ สารแมดิแคสซอล (Madecassol) ที่ให้ผลต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Antioxidation) ซึ่งส่งผลในการลดความเสี่ยงของเซลล์อวัยวะต่างๆ ของร่างกายได้และยังพบว่าสารไกลโคไซด์เหล่านี้ยังช่วยเร่งการสร้างสารคอลลาเจน (Collagen) ที่เป็นโครงสร้างของผิวหนัง จึงถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการกระตุ้นแผลสมานตัวได้เร็ว(จันทร์พร ทองเอกแก้ว.2556) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นการนำเอาส่วนใดส่วนหนึ่งของพืช มาเพาะเลี้ยงในอาหารวิทยาศาสตร์ที่ประกอบด้วย แร่ธาตุ น้ำตาล วิตามิน และสารควบคุมความเจริญเติบโต ภายใต้สภาพปลอดเชื้อจุลินทรีย์และอยู่ในสภาวะควบคุมอุณหภูมิ แสง และความชื้น โดยชิ้นส่วนของพืชที่นำมาเลี้ยงนี้จะสามารถเจริญเติบโตและพัฒนาได้หลายรูปแบบ ไม่ว่าจะเป็นพัฒนาเป็นส่วนอวัยวะหรือเกิดเป็นกลุ่มเซลล์ที่เรียกว่าแคลลัส หรือ คัพพะ (ต้นอ่อนขนาดเล็ก) ที่เรียกว่า เอ็มบริโอ ซึ่งสามารถชักนำส่วนต่างๆ เจริญไปเป็นต้นพืชได้

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความเข้มข้นของ 2,4-D ที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสบวบกในสภาพปลอดเชื้อ

วิธีดำเนินการวิจัย

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) จำนวน 5 กรรมวิธีในแต่ละกรรมวิธีจะมี 6 ซ้ำ ดังนี้ กรรมวิธีที่ 1 อาหาร MS ที่ไม่เติม 2,4-D กรรมวิธีที่ 2 อาหาร MS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร กรรมวิธีที่ 3อาหาร MS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร กรรมวิธีที่ 4อาหาร MS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร และกรรมวิธีที่ 5 อาหาร MS เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร จำนวน 6 ซ้ำ โดยชิ้นส่วนที่ใช้ทดลองจะมีส่วนของใบและปล้อง



ภาพที่ 1 แสดงตัวอย่างการเลี้ยงชิ้นส่วนใบในแต่ละทริตเมนต์

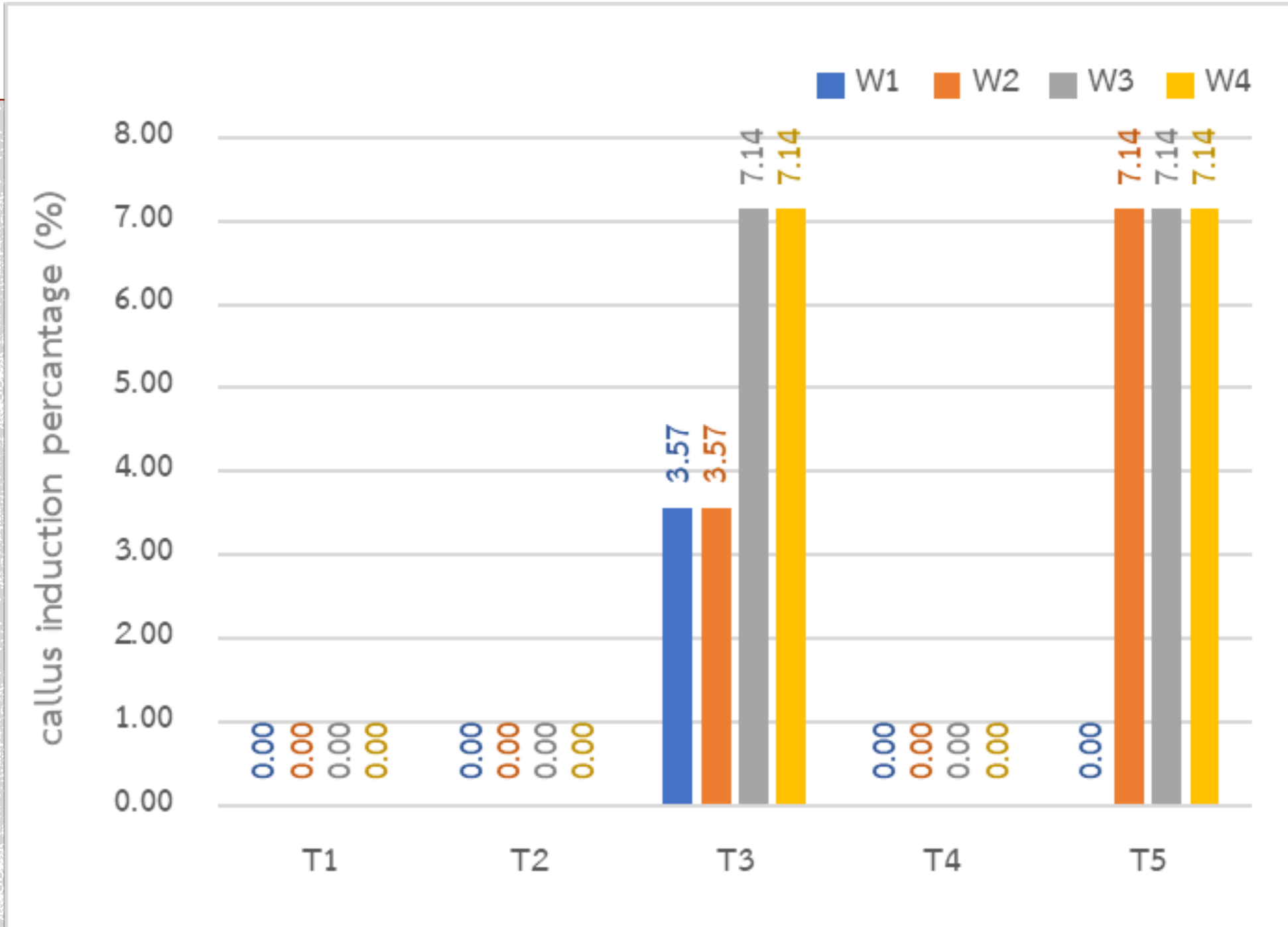


ภาพที่ 2แสดงตัวอย่างการเลี้ยงชิ้นส่วนปล้องในแต่ละทริตเมนต์

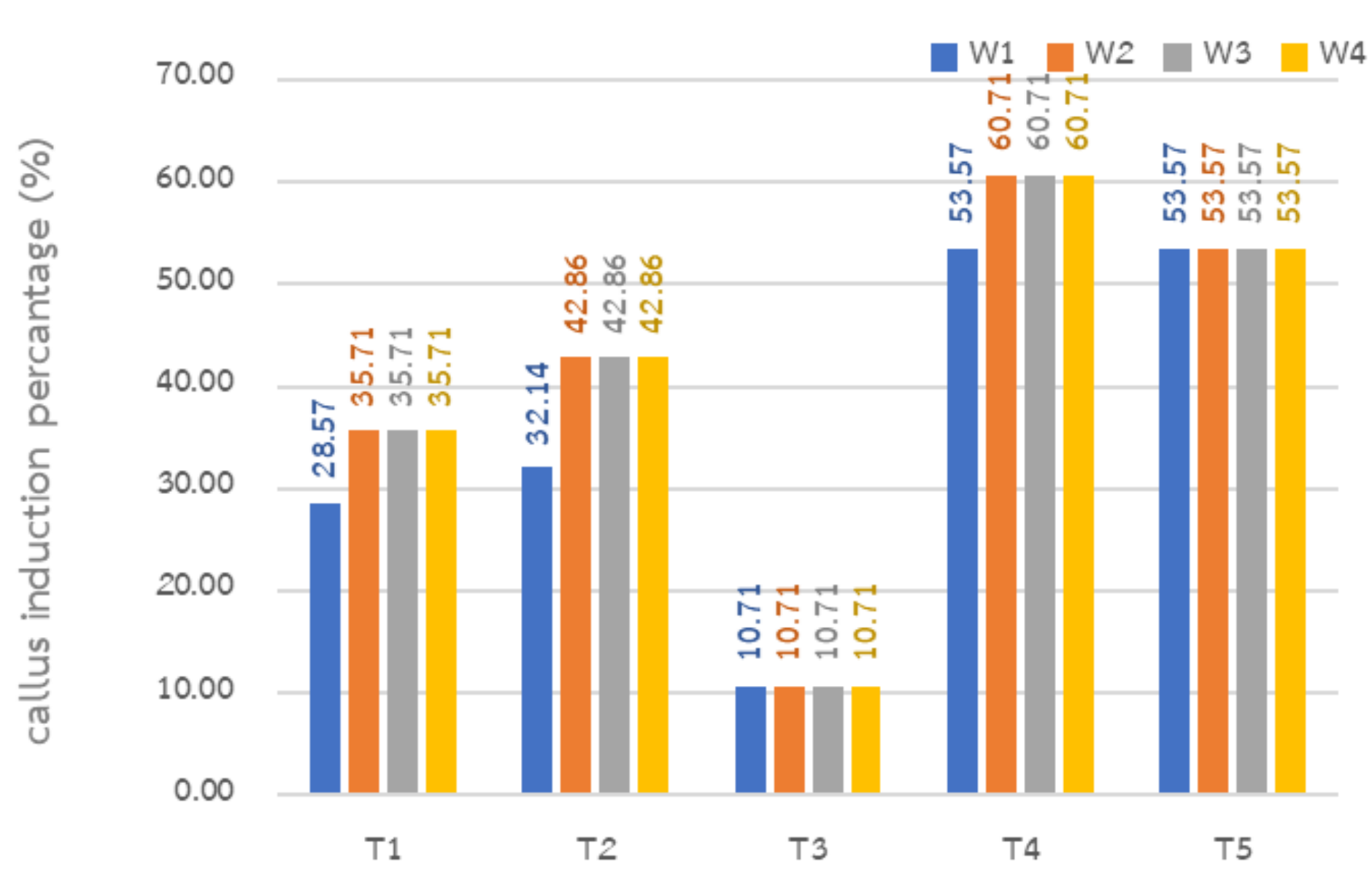
บันทึกผลการวิจัยเมื่อเลี้ยงบนอาหารครบ 4 สัปดาห์โดยทำการบันทึกอัตราการเกิดแคลลัส และขนาดของแคลลัสที่เกิดขึ้น

ผลการวิจัยและอภิปราย

จากการศึกษาพบชิ้นส่วนปล้องมีแนวโน้มการตอบสนองต่ออาหารสังเคราะห์ที่เติม 2,4-D ได้ดีกว่าการชักนำด้วยชิ้นส่วนจากใบ ในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม 2,4-D ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนปล้องของบวบกเกิดแคลลัสได้มากที่สุด 60.71 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ความเข้มข้น 2.0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอัตราการเกิดแคลลัส 53.57 และ 42.86 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าทริตเมนต์ควบคุม ในส่วนของขนาดแคลลัสพบว่า 2,4-D ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตรชักนำให้แคลลัสบวบกมีขนาดใหญ่ที่สุด ซึ่ง 2,4-D เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชในกลุ่มออกซินที่นิยมใช้ในการชักนำให้เกิดแคลลัส (Ling et al.,1987) และเนื่องจาก 2,4-D เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มของออกซินที่มีบทบาทในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ การขยายขนาดของเซลล์ และการเกิดแคลลัสจึงส่งผลให้ชิ้นส่วนพืชตอบสนองต่อ 2,4-D ได้ดี พืชมีการขยายขนาดหรือเจริญเติบโตดี (รังสฤษฎ์, 2541)



ภาพที่ 3. แสดงอัตราการเกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนใบ เป็นเวลา 4 สัปดาห์



ภาพที่ 4. แสดงอัตราการเกิดแคลลัสจากชิ้นส่วนปล้อง เป็นเวลา 4

สัปดาห์

ตารางที่ 1. แสดงขนาดของแคลลัสจากใบและปล้อง ในอาหาร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้นต่าง

Treatments	Leave		Internode	
	Width (mm)	Length (mm)	Width (mm)	Length (mm)
control	3.89 ± 2.68 ab ^{1/}	6.11 ± 4.45 ab	0.70 ± 0.88 b	2.96 ± 3.68 bc
2,4-D 0.5 mgL ⁻¹	4.74 ± 2.79 a	8.08 ± 4.04 a	2.23 ± 2.60 a	4.42 ± 4.34 ab
2,4-D 1.0 mgL ⁻¹	1.99 ± 2.49 c	3.72 ± 4.87 bc	0.64 ± 1.32 b	2.64 ± 4.41 bc
2,4-D 1.5 mgL ⁻¹	2.19 ± 2.60 bc	3.56 ± 4.29 bc	3.15 ± 2.65 a	6.47 ± 5.32 a
2,4-D 2.0 mgL ⁻¹	0.91 ± 2.31 c	1.16 ± 3.12 c	0.47 ± 1.74 b	0.64 ± 2.35 c
F-test	**	**	**	**

สรุปผล

ชิ้นส่วนปล้องของบวบกมีการตอบสนองต่ออาหารสังเคราะห์ที่เติม 2,4-D ในอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตรเหมาะสมสำหรับการชักนำปล้องให้เกิดแคลลัสในสภาพปลอดเชื้อ เนื่องจากสามารถชักนำให้ชิ้นส่วนปล้องของบวบกเกิดแคลลัสได้มากที่สุด และมีขนาดใหญ่ที่สุด

เอกสารอ้างอิง

- Ling, D.H. and Yoshida, S., 1987, Study ofsome factors affecting somatic embryogenesis in IR lines of rice (*Oryza sativa* L.), Acta Bot. Sinica 29: 1-8.
- จันทร์พร ทองเอกแก้ว. (2556). บวบ: สมุนไพรมหาคณประโยชน์. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี 15(3), 70-75.
- ชนภัทร ทรงศักดิ์. (2562).ฤทธิ์สมานแผลของบวบก (Wound Healing Activity of *Centella asiatica* (L.) Urb.) สืบค้นจาก https://ccpe.pharmacycouncil.org/index.php?option=article_detail&subpage=article_detail&id=595
- รังสฤษฎ์ กาวีดิษ. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- สุภวรรณ ฐิระฉนิชกุล, สลิลลา ขาญเขียว และยุทธนา ฐิระฉนิชกุล. (2013). การอบแห้งใบบวบกเพื่อผลิตใบบวบกแห้งขงดื่มด้วยการแห้งสื่อนพราเรต: จลนพลศาสตร์ ความสิ้นเปลืองพลังงานและคุณภาพ (Pennywort Drying Infrared Radiation: Drying Kinetics, Energy Consumption and Quality Aspect). 18(2): 311-324.