การขยายพันธุ์มะรุมโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (*Moringa oleifera* Lam.)

Propagation of *Moringa oleifera* Lam. by Tissue Culture Technique

ฤทัยชนก ชิตเดชะ[1] พิมพ์โพยม บุญมา[1] ผการัตน์ โรจน์ดวง[2] และ สุภาวดี รามสูตร[3*]

Rutaichanok Chitdacha[1] Pimpoyom Boonma[1] Phakarat Rotduang[2] and Supawadee Ramasoot[3*]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสูตรอาหาร ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการขยายพันธุ์ของมะรุมในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำชิ้นส่วนเอ็มบริโอมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog), ½ MS และ WPM (Woody Plant Medium) ทุกสูตรเติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร และวุ้น 8 กรัมต่อลิตร วางเลี้ยงในสภาพให้แสง ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ นาน 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า อาหารสูตร ½ MS ให้ร้อยละการรอดชีวิตสูงสุด คือ ร้อยละ 93.33 รองลงมาคือ อาหารสูตร WPM และอาหารสูตร MS (ร้อยละ 80 และ 76.67 ตามลำดับ) สำหรับการเจริญเติบโตหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน พบว่า ชิ้นส่วนเอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ให้ร้อยละการชักนำยอดรวม (ร้อยละ 60±0.26) จำนวนยอดเฉลี่ย (0.97±0.69 ยอดต่อชิ้นส่วน) และร้อยละการเกิดราก (ร้อยละ 63±0.09) สูงสุด ส่วนอาหารสูตร ½ MS ให้ความสูงต้น (3.65±1.09 เซนติเมตร) ความยาวใบ (0.14±0.05 เซนติเมตร) และความยาวราก (3.10±0.77 เซนติเมตร) สูงสุด ส่วนอาหารสูตร WPM ให้จำนวนใบ (3.03±0.55 ใบต่อชิ้นส่วน) และจำนวนราก (1.20±0.09 รากต่อชิ้นส่วน) สูงสุด สำหรับการชักนำแคลลัส นำชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงของมะรุม อายุ 2 เดือน ขนาด 0.5 เซนติเมตร วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D (2,4-dichlorophenoxy acetic acid) เข้มข้น 0 0.5 1 1.5 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า อาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การชักนำแคลลัสสูงสุดร้อยละ 73 และอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสดของแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด (258.88±15.11 มิลลิกรัม) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับทรีทเมนต์อื่น

คำสำคัญ: มะรุม การขยายพันธุ์ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

[1] หลักสูตรครุศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

[2] หลักสูตรครุศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

[3] หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

* Corresponding author e-mail: supawadee.rs@gmail.com

Abstract

This present study was aimed to investigate micropropagation of *Moringa oleifera* Lam. by tissue culture technique. Zygotic embryos were cultured on MS, ½ MS and WPM medium. All culture media were added with 30 g/l sucrose and solidified with 8 g/l agar. The cultures were kept under the light condition at 3,000 lux, 16 h photoperiod and temperature at 25±2 °C. After culturing for 1 month, ½ MS medium was the best medium in terms of the highest survival rate at 93.33% followed by WPM and MS medium (80% and 76.67%, respectively). For plant growth and development, zygotic embryos cultured on MS medium gave the highest shoot induction (0.60±0.26%), number of shoot (0.97±0.69 shoots per piece) and root induction (63±0.09%). The half MS medium gave the highest height (3.65±1.09 cm), leaf length (0.14±0.05 cm) and root length (3.10±0.77 cm) of seedlings. WPM medium gave the highest number of leaf (3.03±0.55 leaves per piece) and number of roots (1.20±0.09 per explant). For callus induction, hypocotyl from two months old seedlings (0.5 cm in size) were cultured on MS medium supplemented with different concentrations of 2,4-D (0, 0.5, 1, 1.5, 2 and 2.5 mg/l) for 3 months. The results revealed that MS supplemented with 0.5 and 1 mg/l 2,4-D gave the highest percentage of callus induction (73 %). On the other hand, MS supplemented with 0.5 mg/l 2,4-D gave the highest fresh weight (258.88±15.11 mg) significant different with the other treatments ($p \leq 0.05$).

Keywords: *Moringa oleifera* Lam., Propagation, Tissue culture technique

บทนำ

มะรุม (*Moringa oleifera* Lam.) มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศแถบเอเชีย เช่น อินเดีย ศรีลังกา เขตเอเชียไมเนอร์และแอฟริกา สำหรับประเทศไทยมีแหล่งปลูกอยู่ทั่วทุกภูมิภาค มะรุมเป็นไม้ยืนต้นและเป็นพืชสมุนไพรที่น่าสนใจอย่างยิ่ง เนื่องจากมีคุณประโยชน์มากมาย ได้แก่ มีคุณค่าทางโภชนาการสูง (ลัดดาวรรณ, 2557) และมีสรรพคุณทางยา เช่น ลดความดันเลือด ต้านการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร ลดคอเลสเตอรอล ต้านการอักเสบ ป้องกันตับอักเสบ ลดระดับน้ำตาล ต้านออกซิเดชัน ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านการเกิดเนื้องอก และต้านมะเร็ง (สยามเฮิร์บ, 2557) การขยายพันธุ์มะรุมสามารถทำได้โดยการเพาะเมล็ดและการปักชำกิ่ง ใช้ระยะเวลา 2 สัปดาห์ ต้นกล้าสูงประมาณ 10 - 20 เซนติเมตร แต่ปัญหาที่พบมากของการขยายพันธุ์มะรุมคือ หนอนเจาะลำต้นและกิ่งเข้าทำลาย ส่งผลให้ต้นมะรุมเสียหายและตายในที่สุด (สยามเฮิร์บ, 2557) ในปัจจุบันเทคโนโลยีชีวภาพได้ก้าวหน้าไปอย่างมาก ซึ่งเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้นถือเป็นเทคโนโลยีทางด้านการเกษตรอีกวิธีหนึ่งในการขยายพันธุ์พืชโดยการนำชิ้นส่วนของพืช มาเพาะเลี้ยงลงบนอาหารสังเคราะห์ในสภาพ

ปลอดเชื้อที่มีการควบคุมสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ และแสง โดยชิ้นส่วนของพืชนั้นสามารถเจริญเติบโตและพัฒนาไปเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ ได้ปริมาณมาก ในระยะเวลาอันสั้น ต้นพืชที่ได้มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนพ่อแม่ มีขนาดสม่ำเสมอ และปลอดโรค ซึ่งงานวิจัยในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะรุมในประเทศไทยนั้นยังมีการศึกษาน้อย จากการศึกษางานวิจัยเกี่ยวกับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มจำนวนยอด และการชักนำให้เกิดราก โดยใช้ชิ้นส่วนปลายยอด พบว่าต้องใช้ระยะเวลา 4 สัปดาห์ในการชักนำให้เกิดยอดและรากได้มากที่สุด (รัชนี, 2554) นอกจากนี้ยังมีการเพาะเลี้ยงตาข้างของมะรุม ซึ่งสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ในระยะเวลา 6 สัปดาห์ และต้องนำไปชักนำให้เกิดยอดต่อไป โดยต้องระยะเวลานาน (มนฑล และคณะ, 2557) ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเอ็มบริโอในเมล็ดมะรุม เพื่อลดระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง โดยศึกษาผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโต และศึกษาระดับความเข้มข้นของ 2,4-D ที่เหมาะสมต่อการชักนำแคลลัสจากเอ็มบริโอของมะรุม

วิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย

1. การเตรียมวัสดุพืช

การศึกษานี้เก็บรวบรวมฝักแก่มะรุมที่ปลูกใน อ.หัวไทร จ.นครศรีธรรมราช มายังห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ศูนย์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช จากนั้นล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปาและตัดแยกเอาชิ้นส่วนเมล็ดออกจากฝัก มาล้างด้วยน้ำยาล้างจานและผ่านน้ำประปาเป็นเวลา 20 นาที แล้วฟอกฆ่าเชื้อผิวด้านนอกด้วยแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 70 เป็นเวลา 1 นาที ตามด้วยคลอร็อกเข้มข้นร้อยละ 20 หยด Tween 20 1 - 2 หยด ก่อนนำไปเขย่าบนเครื่องเขย่าแบบวงกลม (orbital shaker) เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นล้างออกด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง และตัดแยกชิ้นส่วนเอ็มบริโอของมะรุมไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรสังเคราะห์ต่อไป

2. ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของต้นมะรุมในสภาพปลอดเชื้อ

นำชิ้นส่วนเอ็มบริโอมะรุมที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS, ½ MS และ WPM อาหารทุกสูตรเติมน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร ปรับ pH 5.7 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที วางเลี้ยงในสภาพความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ทำการทดลองสูตรอาหารละ 3 ซ้ำๆ ละ 15 ขวดๆ ละ 1 ชิ้นส่วน สังเกตและบันทึกผลร้อยละการรอดชีวิต ร้อยละการเกิดยอดรวม จำนวนยอด ความสูงต้น จำนวนใบ ความยาวใบ ร้อยละการเกิดราก จำนวนราก และความยาวราก ทุกเดือน เป็นระยะเวลา 2 เดือน วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05

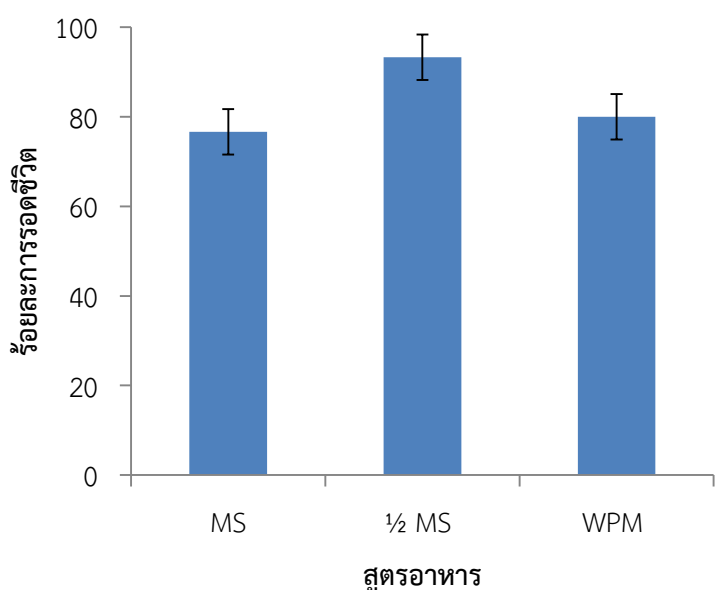
3. ผลของระดับความเข้มข้นต่างๆ ของ 2,4-D ต่อการชักนำแคลลัส

นำชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงของต้นกล้ามะรุมในหลอดทดลอง อายุ 2 เดือน ขนาด 0.5 เซนติเมตร วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 0 0.5 1 1.5 2 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วยน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร ปรับ pH 5.7 นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที วางเลี้ยงในสภาพให้แสง ที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ นาน 14 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ทำการย้ายเลี้ยงและบันทึกผลการทดลองทุก 1 เดือน เป็นเวลา 2 เดือน โดยบันทึกร้อยละการชักนำแคลลัส ชนิดของแคลลัส น้ำหนักสดของแคลลัส (มิลลิกรัม) และขนาดของแคลลัส (เซนติเมตร) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ทำการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 10 ขวด

ผลการวิจัย

1. ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของต้นมะรุมในสภาพปลอดเชื้อ

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเอ็มบริโอมะรุมบนอาหารสูตร MS, ½ MS และ WPM ซึ่งอาหารทุกสูตรเติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น 8 กรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 เดือน พบว่า อาหารสูตร ½ MS ให้การรอดชีวิตสูงสุด คือ ร้อยละ 93.33 รองลงมาคืออาหารสูตร WPM ร้อยละ 80 และอาหารสูตร MS ร้อยละ 76.67 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 1)



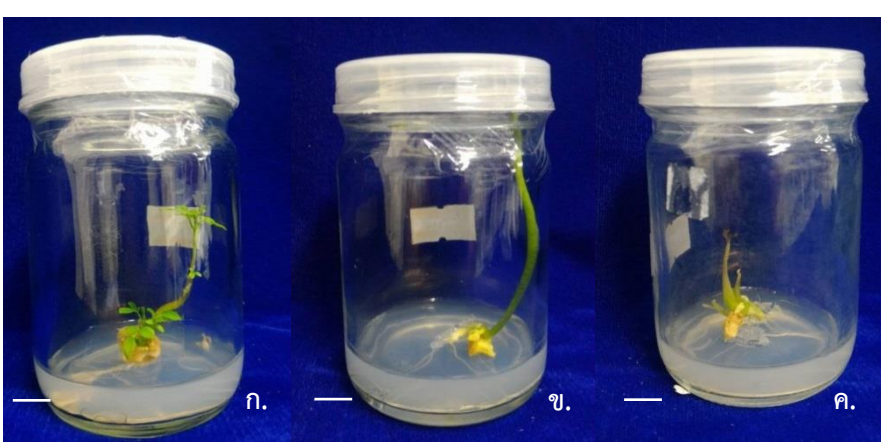
ภาพที่ 1 ร้อยละการรอดชีวิตของชิ้นส่วนเอ็มบริโอมะรุมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน

สำหรับการพัฒนาของเอ็มบริโอ พบว่าชิ้นส่วนเอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ให้ร้อยละการเกิดยอดรวมสูงสุด (ร้อยละ 60±0.26) จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด (0.97±0.69 ยอดต่อชิ้นส่วน) และร้อยละการเกิดราก (ร้อยละ 63±0.09) นอกจากนี้ยังพบว่าชิ้นส่วนเอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS ให้ความสูงต้นเฉลี่ยสูงสุด (3.65±1.09 เซนติเมตร) ความยาวใบเฉลี่ย (0.14±0.05 เซนติเมตร) และความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด (3.10±0.77 เซนติเมตร) ในขณะที่ชิ้นส่วนเอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร WPM ให้จำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด (3.03±0.55 ใบต่อชิ้นส่วน) และจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด (1.20±0.09 รากต่อชิ้นส่วน) (ตารางที่ 1 และภาพที่ 2)

ตารางที่ 1 ผลของสูตรอาหารต่อการเจริญเติบโตของต้นมะรุมในสภาพปลอดเชื้อหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน

สูตรอาหาร	ร้อยละการเกิดยอด	จำนวนยอด (ยอด/ชิ้นส่วน)	ความสูงต้น (ซม.)	จำนวนใบ (ใบ/ชิ้นส่วน)	ความยาวใบ (ซม.)	ร้อยละการเกิดใบ	จำนวนราก (ราก/ชิ้นส่วน)	ความยาวราก (ซม.)
MS	60±0.26	0.97±0.69	1.98±0.54	1.30±0.77	0.09±0.07	63±0.09	0.97±0.06	1.68±0.55
½ MS	57±0.21	0.90±0.78	3.65±1.09	1.97±0.24	0.14±0.05	47±0.03	1.00±0.04	3.10±0.77
WPM	57±0.21	0.97±0.63	1.97±0.43	3.03±0.55	0.10±0.02	57±0.03	1.20±0.09	2.02±0.65
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V.(%)	8.66	11.61	14.47	21.96	19.07	8.94	12.99	15.11

ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



ภาพที่ 2 ลักษณะต้นมะรุมที่ได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเอ็มบริโอบนอาหารสูตรต่างๆ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 เดือน (บาร์ = 0.5 เซนติเมตร)
ก. อาหารสูตร MS ข. อาหารสูตร ½ MS ค. อาหารสูตร WPM

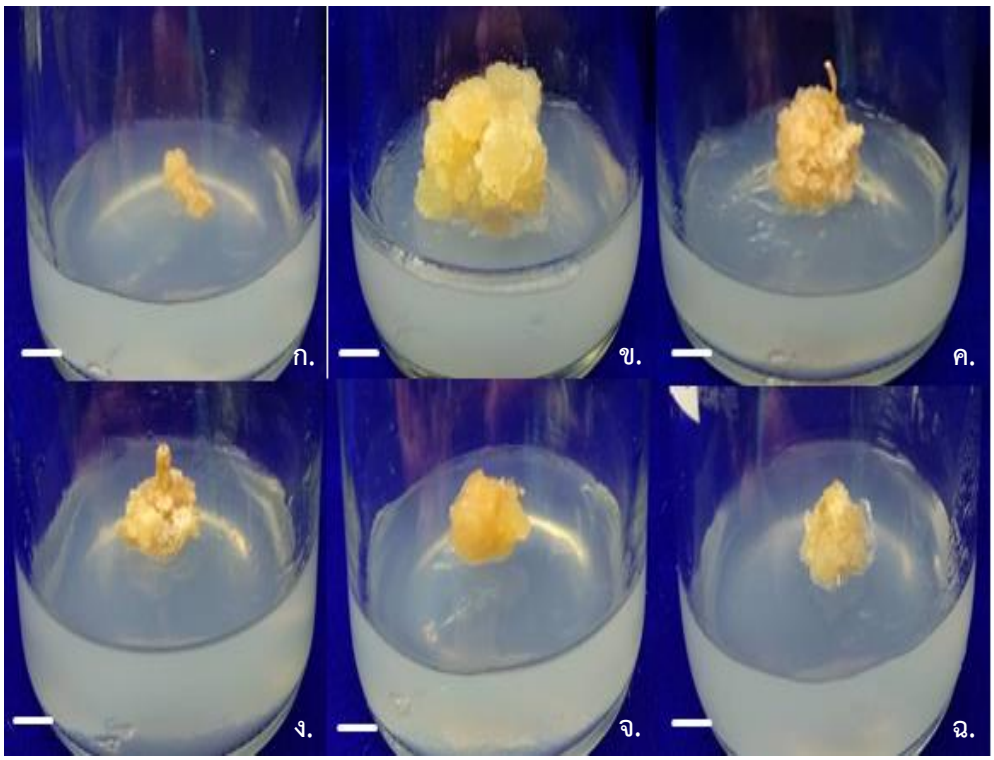
2. ผลของระดับความเข้มข้นต่างๆ ของ 2,4-D ต่อการชักนำแคลลัส

จากการนำชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงของมะรุมที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลอง อายุ 2 เดือน วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 2 เดือน พบว่า อาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ร้อยละการชักนำแคลลัสสูงสุดเท่ากัน คือ ร้อยละ 73 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับทรีทเมนต์อื่นๆ สำหรับน้ำหนักสดของแคลลัส พบว่า อาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสดของแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด คือ 258.88±15.11 มิลลิกรัม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับทรีทเมนต์อื่นๆ (ตารางที่ 3 และภาพที่ 4)

ตารางที่ 3 ผลของระดับความเข้มข้นต่างๆ ของ 2,4-D ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงบนอาหารสูตร MS หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 เดือน

ระดับความเข้มข้นของ 2,4-D (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ร้อยละการชักนำแคลลัส	น้ำหนักสดของแคลลัส (มิลลิกรัม)
0	20±1.02^{b}	31.08±10.01^{c}
0.5	73±1.20^{a}	258.88±15.11^{a}
1	73±1.20^{a}	221.56±14.10^{ab}
1.5	69±1.73^{a}	136.65±12.30^{abc}
2	53±1.45^{ab}	130.71±12.30^{abc}
2.5	67±1.33^{a}	95.52±11.15^{bc}
F-test	*	*
C.V. (%)	8.01	11.03

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$



ภาพที่ 4 ลักษณะของแคลลัสที่ชักนำได้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงของมะรุมบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D ระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน (บาร์ = 0.5 เซนติเมตร)
ก. อาหารสูตร MS ที่ปราศจากการเติม 2,4-D
ข. อาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
ค. อาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร
ง. อาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
จ. อาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร
ฉ. อาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

การอภิปรายผลการวิจัย

การนำชิ้นส่วนเอ็มบริโอของมะรุมมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าอาหารทุกสูตรสามารถชักนำให้เกิดต้นได้ โดยชิ้นส่วนเอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS ให้การรอดชีวิตสูงสุด คือ ร้อยละ 93.33 รองลงมาคือ อาหารสูตร WPM ร้อยละ 80 และอาหารสูตร MS ร้อยละ 76.67 ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Bonga and Aderkas (1992) รายงานว่าธาตุอาหารหลักที่มีปริมาณแอมโมเนียมหรือไนโตรเจนมากเกินไปจะเป็นพิษต่อชิ้นส่วนพืชและจะไปยับยั้งการเจริญเติบโต ซึ่งการลดความเข้มข้นของธาตุอาหารหลักในสูตร MS หรือปรับเปลี่ยนไปใช้อาหารสูตร WPM จะช่วยให้พืชมีอัตราการรอดชีวิตที่สูงขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม

การใช้ความเข้มข้นของสารอาหารที่ต่ำเกินไปก็เป็นการชะลอการเจริญเติบโต และพัฒนาการของพืชได้เช่นกัน

สำหรับการเจริญเติบโต พบว่าชิ้นส่วนเอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ให้การเกิดยอดรวมสูงสุด (ร้อยละ 60±0.26) จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด (0.97±0.69 ยอดต่อชิ้นส่วน) และร้อยละการเกิดราก (ร้อยละ 63±0.09) นอกจากนี้ยังพบว่าชิ้นส่วนเอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS ให้ความสูงต้นเฉลี่ยสูงสุด (3.65±1.09 เซนติเมตร) ความยาวใบเฉลี่ย (0.14±0.05 เซนติเมตร) และความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด (3.10±0.77 เซนติเมตร) สอดคล้องกับการทดลองของ Katherine *et al.* (2004) ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อจากต้นอ่อนมะรุมบนอาหารสูตร MS, ½ MS และ WPM พบว่าสูตรอาหาร MS และ ½ MS ให้การเจริญเติบโตดีที่สุดในการเกิดยอด ในขณะที่ชิ้นส่วนเอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร WPM ให้จำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด (3.03±0.55 ใบต่อชิ้นส่วน) และจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด (1.20±0.09 รากต่อชิ้นส่วน) แตกต่างจากงานวิจัยของรัชนี (2554) อ้างโดย มนฑล และคณะ (2557) ซึ่งรายงานว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมะรุมบนสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีรากเฉลี่ยมากที่สุด 5.50 ราก จากการวิจัยครั้งนี้ถ้ามีการเติม NAA ในอาหารทั้ง 3 สูตร อาจจะทำให้ความยาวรากของมะรุมเพิ่มขึ้นจากเดิม เนื่องจาก NAA เป็นฮอร์โมนประเภทออกซิน หากเติม NAA ความเข้มข้นต่ำในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จะส่งผลให้รากมีการเจริญเติบโตได้ดี แต่ถ้าใช้ NAA ความเข้มข้นสูงมักจะก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อพืช Farooq *et al.* (2002) เปรียบเทียบสูตรอาหาร MS, Schenk and Hildebrandt และ WPM ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตหลายชนิด ได้แก่ kinetin BA และ IAA ในระดับความเข้มข้นที่เท่ากันในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของ *Annona squamosa* พบว่า อาหารสูตร MS ให้การเกิดยอดใหม่สูงสุดร้อยละ 93.17 ยอดใหม่มีจำนวน 3-4 ยอด มากกว่าการเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร SH และ WPM ซึ่งเกิดยอดใหม่เพียง 1-2 ยอด เนื่องจากสูตรอาหาร MS มีธาตุโพแทสเซียมไนเตรต (KNO_3) และโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) ซึ่งมีความจำเป็นในกระบวนการสังเคราะห์โปรตีน ช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ ทำให้เอนไซม์สามารถรวมกับสารอื่นได้ดียิ่งขึ้น ช่วยในการควบคุมศักย์ออสโมซิสซึ่งมีผลต่อการแบ่งเซลล์ แมกนีเซียมซัลเฟต ทำหน้าที่ช่วยเร่งหรือเพิ่มฤทธิ์ของเอมไซม์ และทำหน้าที่เป็นโคแฟกเตอร์สำหรับเอนไซม์ที่มีบทบาทในการถ่ายโอนฟอสเฟส มีส่วนในการสังเคราะห์โปรตีน และการจัดแบ่งส่วนคาร์โบไฮเดรตจากแหล่งที่สร้างและส่วนที่รับ ทำให้มีการสะสมแป้งและน้ำตาลในตำแหน่งที่เหมาะสม แมกนีเซียมในแวคิวโอลจะเป็นไอออนบวก ที่ทำหน้าที่ประกบคู่กับไอออนลบของกรดอินทรีย์และอนินทรีย์ จึงทำให้เกิดสมดุลระหว่างไอออน (มุกดา, 2544) เหมาะสำหรับความต้องการในการพัฒนาให้เกิดยอดและต้นที่สมบูรณ์ของมะรุมมากกว่าสูตรอาหาร ½ MS และ WPM

จากการนำชิ้นส่วนลำต้นใต้ใบเลี้ยงของมะรุม อายุ 2 เดือน วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้นต่างๆ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน พบว่า อาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ร้อยละการชักนำแคลลัสสูงสุด คือ ร้อยละ 73 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับทรีทเมนต์อื่นๆ สำหรับน้ำหนักสดของแคลลัส พบว่า อาหารสูตร MS เติม 2,4-D เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสดของแคลลัสเฉลี่ยสูงสุด คือ 258.88±15.11 มิลลิกรัม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับทรีทเมนต์อื่นๆ ในขณะที่ Shittu *et al.* (2017) พบว่า ใบมะรุมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม 2,4-D เข้มข้น 5 มิลลิกรัม

ต่อลิตร และ KN เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้เกิดแคลลัสสูงสุดหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ ส่วน Oriabi (2016) รายงานว่าชิ้นส่วนใบมะรุมที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม 2,4-D เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสสูงสุดร้อยละ 93.5 และให้น้ำหนักสดสูงสุด 779.5 มิลลิกรัม อย่างไรก็ตามการกระตุ้นให้เกิดแคลลัสจะมีการเติมออกซินลงในอาหาร โดยออกซินจะไปช่วยกระตุ้นและส่งเสริมการแบ่งเซลล์เป็นแคลลัส ซึ่งนิยมใช้ 2,4-D และ 2,4,5-T โดยทั่วไปละลายออกซินด้วยเอทานอล (ethanol) หรือโซเดียมไฮดรอกไซม์ (NaOH) ที่เจือจางเป็นตัวทำละลาย (บุญยืน, 2544) และยังพบว่า 2,4-D มีการชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีกว่าออกซินชนิดอื่นๆ คือ IBA และ NAA

สรุปผลการวิจัย

จากการวิจัยครั้งนี้พบว่าอาหารสูตร ½ MS เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเอ็มบริโอของมะรุมและสามารถชักนำให้เกิดต้น ให้การรอดชีวิตสูงสุด คือ ร้อยละ 93.33 ภายในเวลา 1 เดือน สำหรับการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอบนอาหารสูตร MS ทำให้เกิดยอดรวม จำนวนยอดเฉลี่ย และร้อยละการเกิดรากสูงสุด และชิ้นส่วนเอ็มบริโอที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS ให้ความสูงต้นเฉลี่ย ความยาวใบเฉลี่ย และความยาวรากเฉลี่ยสูงสุด ซึ่งจากการวิจัยครั้งนี้ สามารถนำสูตรอาหารที่ศึกษาไปใช้ขยายพันธุ์มะรุมโดยใช้เอ็มบริโอในเมล็ด ทำให้ขยายพันธุ์มะรุมจำนวนมากได้อย่างรวดเร็ว อีกทั้งต้นมะรุมที่ได้มีสภาพปลอดโรค และสามารถนำไปปรับสภาพเพื่อเตรียมเพาะปลูกในดินตามธรรมชาติได้อีกต่อไป นอกจากนี้ยังสามารถศึกษาการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนอื่นๆ ของมะรุม เช่น ฝัก ใบ หรือกิ่งของมะรุม โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อนำชิ้นส่วนต่างๆ ของต้นมะรุมมาเพิ่มมูลค่า ลดระยะเวลาในการขยายพันธุ์ และได้ต้นมะรุมที่มีสภาพปลอดโรค

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาสยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช (อพ.สธ. – มรภ.นครศรีธรรมราช) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561

เอกสารอ้างอิง

บุญยืน กิจวิจารณ์. (2544). *เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ*. (พิมพ์ครั้งที่ 2). ขอนแก่น: โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา.

มนฑล สงวนเสริมศรี นิภาพร พิมเสน พีรวุฒ วงศ์สวัสดิ์ และภพเก้า พุทธรักษ์. (2557) ผลของ NAA ร่วมกับ TDZ ต่อการชักนำให้เกิดแคลลัสในมะรุม (*Moringa oleifera* Lam). *วารสารนเรศวรพะเยา*, 7(3), 242-251.

มุกดา สุขสวัสดิ์. (2544). *ความอุดมสมบูรณ์ของดิน*. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.

รัชนี เพ็ชร์ช้าง. (2554). การขยายพันธุ์ผักพื้นบ้านบางชนิดด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในตำบลนานกกก อำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์. *วารสารมหาวิทยาลัยนเรศวร*, 19(3), 35-42.

ลัดดาวรรณ อินทร์ดี (2557). *การปลูกมะรุมและการแปรรูปมะรุม.* สืบค้นเมื่อ 22 มิถุนายน 2561, จาก: http://anusorn911.blogspot.com/2014/02/blog-post_8.html

สยามเฮิร์บ. (2557). *มะรุม สรรพคุณทางยาประโยชน์และผลข้างเคียงจากงานวิจัย ม.มหิดล.* สืบค้นเมื่อ 3 พฤศจิกายน 2560, จาก: http://siamherbs.blogspot.com/2014/09/moringa.html.

Bonga, J.M. and Aderkas, P.V. (1992). *In Vitro Culture of Trees*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

Farooq, S.A., Farooq, T.T. and Rao, T.V. (2002). Micropropagation of Annona squamosa L. using nodal explants. *Pakistan Journal of Biological Science*, 5, 43-46.

Katherine, K., Stephenson, S. and Fahey, J. W. (2004). Development of tissue culture method for the rescue and propagation of endangered *Moringa* Spp. Germplasm. *Economic Botany*, 58, S116-S124.

Oriabi, A. (2016). *Moringa oleifera* in vitro culture and its application as anti-diabetic in alloxan induced diabetic albino mice. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences,* 5(2), 43-49.

Shittu, H.O., Aghogban, O.N., Akaluzia, H.C. and Chibuogwu, M.O. (2017). A comparison of callus production from *Moringa oleifera* Lam. leaf, cotyledon and stem explants using 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid and kinetin for media supplementation. *SAU Journal of science and technology,* 2(1), 3-5.