



การศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อพืชสมุนไพรท้องถิ่นอำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย
เพื่อการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ

Study on Surface Sterilization Method of Local Herb Plants in
Chiang Saen District, Chiang Rai for In Vitro Propagation

จิราภรณ์ ปาลี¹

Jiraporn Palee

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อพืชสมุนไพรตามภูมิปัญญาท้องถิ่น อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย เพื่อการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ โดยผู้วิจัยได้ทำการคัดเลือกพืชสมุนไพรจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ว่านเกราะเพชรไพฑูรย์ ว่านเอ็นเหลือง และว่านเสน่ห์จันทร์หอม ซึ่งส่วนของพืชที่ใช้ในการทดลองคือ หน่อ โดยนำชิ้นส่วนหน่อของว่านทั้ง 3 ชนิด มาทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารฟอกขาวที่มีชื่อการค้าคือ ไฮเตอร์ (ซึ่งมีโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 6%) ที่ระดับความเข้มข้นและเวลาที่แตกต่างกัน จากนั้นย้ายเลี้ยงหน่อว่านที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วบนอาหารวุ้นสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ผลจากการทดลองพบว่า วิธีการฟอกฆ่าเชื้อหน่อว่านเกราะเพชรไพฑูรย์ที่ดีที่สุด คือ การฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ความเข้มข้น 15% นาน 15 นาที โดยมีอัตราการรอดของชิ้นส่วนสูงสุด 86.7% ขณะที่วิธีการฟอกฆ่าเชื้อหน่อว่านเอ็นเหลืองและหน่อว่านเสน่ห์จันทร์หอมที่ดีที่สุด คือ การฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ความเข้มข้น 15% นาน 10 นาที โดยมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด 93.3% และ 73.3% ตามลำดับ

คำสำคัญ : การฟอกฆ่าเชื้อ การขยายพันธุ์ เชียงแสน สมุนไพร สภาพปลอดเชื้อ

ABSTRACT

The purpose of this research was to study the surface sterilization method of local herb plants in Chiang Saen District, Chiang Rai for in vitro propagation. The three species of local herb plant namely “Wan Korw Ped Pai Toon (Zingiber sp.)” “Wan En Luang (Curcuma sp.)” and “Wan Sanea Jun Horm (Kaempferia galanga)” were examined. The bud explants were surface-sterilized with different concentrations of surface disinfectant, Haite® (6% w/w

¹ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์ คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย

Email: em_jiraporn_p@crru.ac.th, 0979211381

sodium hypochlorite), and time periods. Then, the bud explants were cultured on MS agar medium for 8 weeks. The results revealed that the best disinfection method for Zingiber sp. was using 15% Haite solution for 15 min, resulting in the highest survival rate of 86.7%. While, the surface disinfestation of Curcuma sp. and K. galanga by using 15% Haite solution for 10 min was the best method which resulted in 93.3% and 73.3% survival rate, respectively.

Keyword : Surface Sterilization, Propagation, Chiang Saen, Herb Plant, In Vitro Culture

บทนำ

ในพื้นที่อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย พบว่ามีป่าไม้ที่อุดมสมบูรณ์อยู่เป็นจำนวนมาก เช่น ป่าห้วยฮ่อม ป่าหนองเหียง ป่าชุมชนวัดพระธาตุผาเงา เป็นต้น ซึ่งชาวบ้านในอำเภอเชียงแสนยังมีการใช้ประโยชน์จากพืชสมุนไพรตามภูมิปัญญาท้องถิ่นอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน มีการนำพืชสมุนไพรมาใช้บำบัดรักษาโรคภายในครัวเรือน และผลิตเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรออกจำหน่ายให้กับคนในพื้นที่และส่งขายให้กับประเทศเพื่อนบ้าน อาทิ สาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมา สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว ส่งผลทำให้ความต้องการพืชสมุนไพรเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นยารักษาโรค หรือผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับสุขภาพมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น ซึ่งการนำพืชสมุนไพรมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตยาหรือผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ คราวละมากๆ โดยไม่มีมาตรการควบคุมอาจก่อให้เกิดปัญหาการสูญเสียทรัพยากรธรรมชาติของประเทศได้ในอนาคต

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นเทคนิคหนึ่งที่มีความนิยมในด้านการขยายพันธุ์พืช โดยพบว่าสามารถขยายพันธุ์พืชให้ได้จำนวนมากในระยะเวลาอันรวดเร็ว โดยไม่ขึ้นกับฤดูกาลและสภาพแวดล้อม อีกทั้งยังช่วยแก้ปัญหาเกี่ยวกับการขยายพันธุ์พืชที่หายากใกล้สูญพันธุ์ หรือพืชที่มีปัญหาเกี่ยวกับการขยายพันธุ์ตามธรรมชาติ เช่น มีการพักตัวของเมล็ด มีอัตราการงอกของเมล็ดต่ำ หรือมีจำนวนเมล็ดน้อย ฯลฯ แต่อย่างไรก็ตาม ความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขึ้นอยู่กับหลากหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง โดยเฉพาะขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช ซึ่งชนิดและความเข้มข้นของสารฟอกฆ่าเชื้อ รวมถึงระยะเวลาที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมของพืชแต่ละชนิดก็จะแตกต่างกันออกไป ทั้งนี้ขึ้นกับหลายๆ ปัจจัย เช่น ชนิดของพืช ชิ้นส่วนที่ใช้ ขนาดของชิ้นส่วน เป็นต้น โดยมีงานวิจัยในพืชหลายชนิดที่ศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช เช่น การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดลิ้นงูเห่า (จิราภรณ์, 2016) การฟอกฆ่าเชื้อ *Amorphophallus oncophyllus* (Chotigamas et al., 2009) การฟอกฆ่าเชื้อพรรณไม้น้ำบุเชป (นงนุช และคณะ, 2560) การฟอกฆ่าเชื้อบัวยักษ์ออสเตรเลีย (รุ่งอรุณ และคณะ, 2560) การฟอกฆ่าเชื้อต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิง (จันทร์เพ็ญ และคณะ, 2562) การฟอกฆ่าเชื้อไรโซมของไพล (รัตนและจิตรกร, 2562) เป็นต้น

ดังนั้น การนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ในการขยายพันธุ์พืชสมุนไพร น่าจะทำให้ได้ต้นพันธุ์สมุนไพรจำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น ได้ต้นพันธุ์สมุนไพรเพื่อการแจกจ่ายให้แก่ชาวบ้านในชุมชน เพื่อการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์พืชสมุนไพรตามภูมิปัญญาท้องถิ่นอำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย ให้คงอยู่สืบไป อีกทั้งยังได้ต้นพันธุ์สมุนไพรเพื่อใช้ในการศึกษาทางด้านต่างๆ ต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อพืชสมุนไพรตามภูมิปัญญาท้องถิ่น อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย เพื่อการขยายพันธุ์พืชสมุนไพรในสภาพปลอดเชื้อ

วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ปัญหาการปนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรีย ถือเป็นอีกหนึ่งปัญหาหลักของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ดังนั้น การศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชจึงเป็นอีกหนึ่งขั้นตอนที่ถือว่าสำคัญสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งสารฟอกฆ่าเชื้อที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย ได้แก่ สารละลายคลอโรกซ์ (Clorox) สารละลายไฮเตอร์ (Haite®) โดยชนิดและความเข้มข้นของสารฟอกฆ่าเชื้อ รวมถึงระยะเวลาที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมจะแตกต่างกันออกไปขึ้นกับหลายๆ ปัจจัย เช่น ชนิดของพืช ชิ้นส่วนที่ใช้ ขนาดของชิ้นส่วน เป็นต้น ซึ่งมีงานวิจัยในพืชหลายชนิดที่ศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชด้วยสารละลายไฮเตอร์หรือคลอโรกซ์ ตัวอย่างเช่น การศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อหน่อ *Amorphophallus oncophyllus* ที่พบว่าวิธีการฟอกฆ่าเชื้อหน่อที่ดีที่สุด คือ การฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ 20% นาน 20 นาที (Chotigamas et al., 2009) ขณะที่วิธีการฟอกฆ่าเชื้อหน่อ *Stemona curtisii* ที่เหมาะสม คือ การฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอโรกซ์ 15% นาน 15 นาที (Palee et al., 2013)

ความสำเร็จของการฟอกฆ่าเชือนั้น ไม่ใช่เพียงดูจากเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรียต่ำสุดเท่านั้น แต่ต้องดูอัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนพืชที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อควบคู่ไปด้วย ภพแก้ว และคณะ (2555) ศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อใบอ่อนบอนสี กุหลาบหิน และคว่ำตายหงายเป็น พบว่า ความเข้มข้นของสารฟอกฆ่าเชื้อจะมีผลต่อการปนเปื้อนและการรอดชีวิตของชิ้นส่วนใบอ่อนที่เพาะเลี้ยง โดยอัตราการปนเปื้อนจะสูงสุด 100% (เปอร์เซ็นต์การรอดเป็น 0) เมื่อฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอโรกซ์ 5% นาน 15 นาที แต่อัตราการการปนเปื้อนจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารฟอกฆ่าเชื้อเพิ่มขึ้น การฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอโรกซ์ 15% นาน 15 นาที เป็นความเข้มข้นที่ดีที่สุด ซึ่งถึงแม้ว่าจะพบการปนเปื้อนถึง 40% แต่อัตราการรอดชีวิตของเนื้อเยื่อก็สูงถึง 60% ขณะที่การฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอโรกซ์ 20% นาน 15 นาที ถึงแม้จะไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรีย แต่ชิ้นส่วนใบอ่อนที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นดังกล่าวจะถูกทำลายและชำตายไปในที่สุด (เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเป็น 0) การศึกษาวิธีการขยายพันธุ์ต้นลิงลาวใน

สภาพปลอดเชื้อ พบว่า วิธีการพอกฆ่าเชื้อเมล็ดลิ้งลาวที่ดีที่สุดคือ การพอกด้วยสารละลายไฮเตอร์ 20% นาน 20 นาที แล้วแช่ใน 95% แอลกอฮอล์ นาน 5 นาที โดยพบการปนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรีย 40% และมีอัตราการงอกของเมล็ด 40% ขณะที่การพอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ 20% นาน 20 นาที แล้วแช่ใน 95% แอลกอฮอล์ นาน 20 นาที มีการปนเปื้อนต่ำสุดเพียง 10% แต่กลับไม่พบการงอกของเมล็ดลิ้งลาวเลย (จิราภรณ์, 2016)

ซึ่งการศึกษาเกี่ยวกับวิธีการพอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชยังพบรายงานในพืชชนิดอื่นๆ เช่น การพอกฆ่าเชื้อหัวว่านสีทึบ (ภพแก้ว และคณะ, 2554) การพอกฆ่าเชื้อปลายยอดโมกพวง รักขาว รักม่วง และใบอ่อนพุทจีบ (ภพแก้ว และวารุต, 2555) การพอกฆ่าเชื้อส้มซ่า (อุบล, 2556) การพอกฆ่าเชื้อเมล็ด *Achyranthes aspera* (Sen et al., 2013) การพอกฆ่าเชื้อสตรอเบอร์รี่ (Jan et al., 2013) การพอกฆ่าเชื้อเมล็ด *Andrographis paniculata* (Talei et al., 2011) การพอกฆ่าเชื้อบัวยักษ์ออสเตรเลีย (รุ่งอรุณ และคณะ, 2560) การพอกฆ่าเชื้อพรรณไม้น้ำบุเชป (นงนุช และคณะ, 2560) การพอกฆ่าเชื้อต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิง (จันทร์เพ็ญ และคณะ, 2562) และการพอกฆ่าเชื้อโรโซมของโพล (รัตนาและจิตรกร, 2562) เป็นต้น

วิธีดำเนินการวิจัย

พืชสมุนไพรท้องถิ่นอำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย ที่คัดเลือกมาทำการทดลองนั้น จะเน้นพืชสมุนไพรที่ชาวบ้านนิยมนำมาใช้ประโยชน์หรือค่อนข้างหายาก อันได้แก่ ว่านเกราะเพชรไพฑูรย์ (ภาพที่ 1ก) ว่านเอ็นเหลือง (ภาพที่ 2ก) และว่านเสน่ห์จันทร์หอม (ภาพที่ 3ก) โดยสรรพคุณของว่านเกราะเพชรไพฑูรย์นั้นชาวบ้านมีความเชื่อว่าเหง้าใช้ต้มดื่มยับยั้งและรักษาโรคมะเร็งได้ เหง้าของว่านเอ็นเหลืองสามารถใช้เป็นยาแก้โรคเหน็บชา แก้โรคเบาหวาน และแก้โรคกษัยได้ ขณะที่เหง้าของว่านเสน่ห์จันทร์หอมสามารถบรรเทาอาการท้องอืดเฟ้อและขับลมในลำไส้ได้ ซึ่งชิ้นส่วนพืชสมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง คือ หน่อ โดยตัดหน่อว่านเกราะเพชรไพฑูรย์ (ภาพที่ 1ข) หน่อว่านเอ็นเหลือง (ภาพที่ 2ข) และหน่อว่านเสน่ห์จันทร์หอม (ภาพที่ 3ข) ความยาว 1.0 – 1.5 เซนติเมตร มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำก๊อกไหลผ่าน จากนั้นพอกฆ่าเชื้อหน่อว่านทั้ง 3 ชนิดด้วยสารละลายไฮเตอร์ที่ความเข้มข้นและเวลาที่แตกต่างกัน 4 วิธี ดังนี้

วิธีที่ 1 พอกด้วยสารละลายไฮเตอร์ ความเข้มข้น 10% เขย่านาน 10 นาที

วิธีที่ 2 พอกด้วยสารละลายไฮเตอร์ ความเข้มข้น 10% เขย่านาน 15 นาที

วิธีที่ 3 พอกด้วยสารละลายไฮเตอร์ ความเข้มข้น 15% เขย่านาน 10 นาที

วิธีที่ 4 พอกด้วยสารละลายไฮเตอร์ ความเข้มข้น 15% เขย่านาน 15 นาที

จากนั้นนำหน่อว่านทั้ง 3 ชนิดที่ผ่านการพอกฆ่าเชื้อจากทั้ง 4 วิธี มาล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง เขย่านานครั้งละ 3 – 5 นาที ย้ายเลี้ยงหน่อว่านทั้ง 3 ชนิด ลงบนอาหารวุ้นสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยเลี้ยงภายใต้ห้องควบคุมอุณหภูมิ

25 ± 2 °C ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน บันทึกเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อราและแบคทีเรีย เปอร์เซ็นต์การตาย และอัตราการรอดของชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงทุกๆ สัปดาห์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

$$\text{เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน} = \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนหน่อที่เกิดการปนเปื้อน}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนหน่อทั้งหมด}} \times 100$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์การตาย} = \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนหน่อที่ตาย}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนหน่อทั้งหมด}} \times 100$$

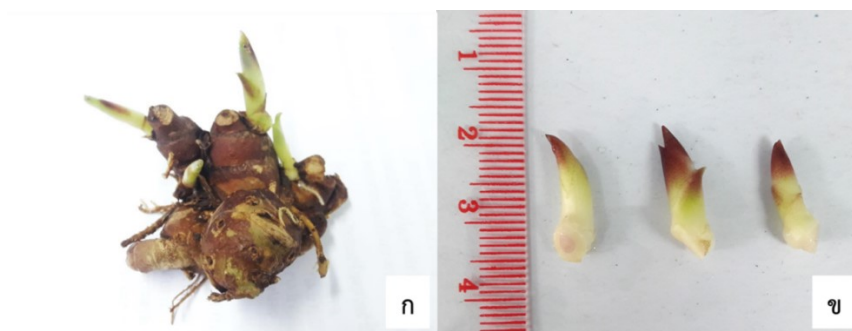
$$\text{อัตราการรอดชีวิต} = \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนหน่อที่งอก}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนหน่อทั้งหมด}} \times 100$$



ภาพที่ 1 ว่านเกราะเพชรไพฑูรย์และชิ้นส่วนหน่อที่ใช้ในการทดลอง



ภาพที่ 2 ว่านเอ็นเหลื่องและชิ้นส่วนหน่อที่ใช้ในการทดลอง



ภาพที่ 3 วานเสนห์จันทร์หอมและชิ้นส่วนหน่อที่ใช้ในการทดลอง

ผลการวิจัย

การศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อพืชสมุนไพรท้องถิ่นอำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย ด้วยสารละลายไฮเตอร์ที่ความเข้มข้นและเวลาที่แตกต่างกัน 4 วิธี ให้ผลการทดลองดังนี้

1. วานเกราะเพชรไพฑูรย์

จากการฟอกฆ่าเชื้อหน่อวานเกราะเพชรไพฑูรย์ด้วยวิธีการที่แตกต่างกัน พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อหน่อด้วยวิธีที่ 4 คือ การฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ความเข้มข้น 15% นาน 15 นาที พบอัตราการปนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรียของชิ้นส่วนต่ำสุด 13.3% รองลงมาคือ การฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ 3 ด้วยสารละลายไฮเตอร์ความเข้มข้น 15% นาน 10 นาที (ตารางที่ 1) ขณะที่การฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ความเข้มข้น 10% นาน 10 นาที พบการปนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรียสูงถึง 100.0% ซึ่งเมื่อเพาะเลี้ยงหน่อวานเกราะเพชรไพฑูรย์ครบ 8 สัปดาห์ พบว่า หน่อที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ 4 มีอัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนสูงสุด 86.7% โดยหน่อวานเกราะเพชรไพฑูรย์ที่รอดชีวิตจะมีการเจริญพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่มีทั้งยอดและราก ดังภาพที่ 4ก

ตารางที่ 1 เปอร์เซนต์การปนเปื้อน การตาย และอัตราการรอดของหน่อวานเกราะเพชรไพฑูรย์ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ	เปอร์เซนต์การปนเปื้อน	เปอร์เซนต์การตาย	เปอร์เซนต์การรอดชีวิต
วิธีที่ 1 สารละลายไฮเตอร์ 10% นาน 10 นาที	100.0%	-	0.0%
วิธีที่ 2 สารละลายไฮเตอร์ 10% นาน 15 นาที	80.0%	-	20.0%
วิธีที่ 3 สารละลายไฮเตอร์ 15% นาน 10 นาที	66.7%	-	33.3%
วิธีที่ 4 สารละลายไฮเตอร์ 15% นาน 15 นาที	13.3%	-	86.7%

2. วานเอ็นเหลียง

ผลจากการศึกษาวิธีการพอกฆ่าเชื้อหน่อวานเอ็นเหลียง พบว่า การพอกฆ่าเชื้อหน่อดังวิธีที่ 3 คือ การพอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ความเข้มข้น 15% นาน 10 นาที และวิธีที่ 4 คือ การพอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ความเข้มข้น 15% นาน 15 นาที พบการปนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรียของชิ้นส่วนต่ำสุด 6.7% (ตารางที่ 2) รองลงมาคือ การพอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ 2 ด้วยสารละลายไฮเตอร์ 10% นาน 15 นาที พบการปนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรีย 46.7% ขณะที่การพอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ความเข้มข้น 10% นาน 10 นาที พบการปนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรียสูงถึง 73.3% อย่างไรก็ตาม ความสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้น ไม่ใช่เพียงดูจากการปนเปื้อนของชิ้นส่วน แต่ต้องดูอัตราการรอดของชิ้นส่วนพืชที่ผ่านการพอกฆ่าเชื้อด้วย ซึ่งเมื่อเพาะเลี้ยงหน่อวานเอ็นเหลียงครบ 8 สัปดาห์ พบว่า หน่อที่ผ่านการพอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ 3 มีอัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนสูงสุด 93.3% ขณะที่หน่อที่ผ่านการพอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ 4 พบว่ามีอัตราการรอดชีวิตเพียง 86.7% เนื่องจากมีการตายของชิ้นส่วนหน่อที่เพาะเลี้ยง 6.7% โดยหน่อที่เพาะเลี้ยงสามารถเจริญพัฒนาไปเป็นต้นอ่อน ดังภาพที่ 4ข

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน การตาย และอัตราการรอดของหน่อวานเอ็นเหลียงที่ผ่านการพอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

วิธีการพอกฆ่าเชื้อ	เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน	เปอร์เซ็นต์การตาย	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต
วิธีที่ 1 สารละลายไฮเตอร์ 10% นาน 10 นาที	73.3%	-	26.7%
วิธีที่ 2 สารละลายไฮเตอร์ 10% นาน 15 นาที	46.7%	-	53.3%
วิธีที่ 3 สารละลายไฮเตอร์ 15% นาน 10 นาที	6.7%	-	93.3%
วิธีที่ 4 สารละลายไฮเตอร์ 15% นาน 15 นาที	6.7%	6.7%	86.7%

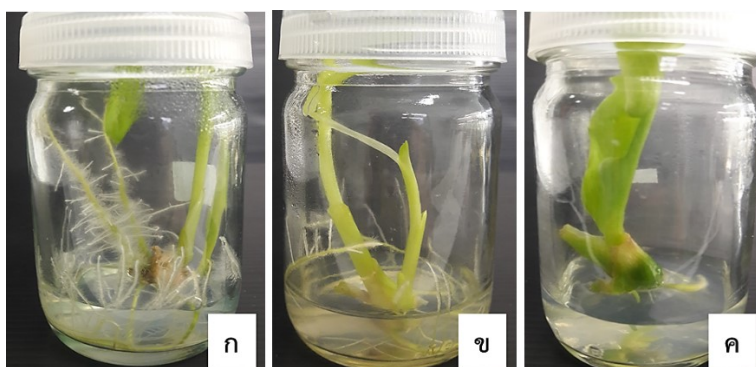
3. วานเสน่ห์จันทร์หอม

จากการพอกฆ่าเชื้อหน่อวานเสน่ห์จันทร์หอมด้วยวิธีการที่แตกต่างกัน พบว่า การพอกฆ่าเชื้อหน่อดังวิธีที่ 4 คือ การพอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ความเข้มข้น 15% นาน 15 นาที พบการปนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรียของชิ้นส่วนต่ำสุด 13.3% (ตารางที่ 3) รองลงมาคือ การพอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ 3 ด้วยสารละลายไฮเตอร์ 15% นาน 10 นาที พบการปนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรีย 20.0% ขณะที่การพอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ 1 ด้วยสารละลายไฮเตอร์ความเข้มข้น 10% นาน 10 นาที พบการปนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรียสูงถึง 93.3% แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาจากอัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงที่ 8 สัปดาห์ พบว่า หน่อที่ผ่านการพอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ 3 มีอัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนสูงสุด 73.3% มีการตาย

ของชิ้นส่วนเพาะเลี้ยง 6.7% ขณะที่หน่อที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ 4 พบว่ามีอัตราการรอดชีวิตเพียง 66.7% เนื่องจากการตายของชิ้นส่วนหน่อที่เพาะเลี้ยงสูงถึง 20.0% โดยหน่อว่านเสน่ห์จันทร์หอมที่รอดชีวิตสามารถเจริญพัฒนาไปเป็นต้นอ่อนดังภาพที่ 4ค

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน การตาย และอัตราการรอดของหน่อว่านเสน่ห์จันทร์หอม ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่แตกต่างกัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์

วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ	เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน	เปอร์เซ็นต์การตาย	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต
วิธีที่ 1 สารละลายไฮเตอร์ 10% นาน 10 นาที	93.3%	-	6.7%
วิธีที่ 2 สารละลายไฮเตอร์ 10% นาน 15 นาที	60.0%	-	40.0%
วิธีที่ 3 สารละลายไฮเตอร์ 15% นาน 10 นาที	20.0%	6.7%	73.3%
วิธีที่ 4 สารละลายไฮเตอร์ 15% นาน 15 นาที	13.3%	20.0%	66.7%



ภาพที่ 4 หน่อว่านที่เพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตร MS เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ก) ว่านเกราะเพชรไพฑูรย์ ข) ว่านเอ็นเหลือง และ ค) ว่านเสน่ห์จันทร์หอม

สรุปและอภิปรายผล

จากการศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อพืชสมุนไพรตามภูมิปัญญาท้องถิ่นอำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย เพื่อการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังนี้

1. วิธีการฟอกฆ่าเชื้อหน่อว่านเกราะเพชรไพฑูรย์ที่ดีที่สุด คือ การฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ความเข้มข้น 15% นาน 15 นาที โดยมีอัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนสูงสุด 86.7%
2. วิธีการฟอกฆ่าเชื้อหน่อว่านเอ็นเหลืองที่ดีที่สุด คือ การฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ความเข้มข้น 15% นาน 10 นาที โดยมีอัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนสูงสุด 93.3%

3. วิธีการพอกฆ่าเชื้อหน่อว่านเสน่ห์จันทร์หอมที่ดีที่สุด คือ การพอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ ความเข้มข้น 15% นาน 10 นาที โดยมีอัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนสูงสุด 73.3%

ผลจากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า ถึงแม้ชิ้นส่วนของพืชทดลองจะใช้หน่อเหมือนกันและมีความยาวเท่ากัน (1.0 – 1.5 เซนติเมตร) แต่ถ้ามีขนาดแตกต่างกัน ความเข้มข้นของสารพอกฆ่าเชื้อ และระยะเวลาที่ใช้ในการพอกฆ่าเชื้อก็จะแตกต่างกัน โดยความเข้มข้นของสารพอกฆ่าเชื้อและระยะเวลาในการพอกฆ่าเชื้อจะมีผลต่ออัตราการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรีย อัตราการตาย และอัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนหน่อที่เพาะเลี้ยง ซึ่งผลจากการทดลองที่ได้พบว่าสอดคล้องกับการทดลองของภพแก้ว และคณะ (2555) ที่พบว่า ความเข้มข้นของสารพอกฆ่าเชื้อจะมีผลต่อการปนเปื้อนและการรอดชีวิตของชิ้นส่วนใบอ่อนของบอนสี กุหลาบหิน และคว่ำตายหงายเป็น โดยวิธีการพอกฆ่าเชื้อใบอ่อนที่ดีที่สุด คือ การพอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอโรกซ์ 15% นาน 15 นาที ซึ่งถึงแม้ว่าจะพบการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรีย 40% แต่อัตราการรอดชีวิตของเนื้อเยื่อถึง 60% ขณะที่การพอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอโรกซ์ 20% นาน 15 นาที ถึงแม้ว่าจะไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรีย แต่ชิ้นส่วนใบอ่อนที่ผ่านการพอกฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นดังกล่าวจะถูกทำลายและชำตายไปในที่สุด นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับผลการทดลองของจิราภรณ์ (2016) ที่พบว่า วิธีการพอกฆ่าเชื้อเมล็ดลิ้นงูเห่าที่ดีที่สุดคือ การพอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ 20% นาน 20 นาที แล้วแช่ใน 95% แอลกอฮอล์ นาน 5 นาที โดยมีอัตราการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรีย 40% และมีอัตราการงอกของเมล็ด 40% ขณะที่การพอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ 20% นาน 20 นาที แล้วแช่ใน 95% แอลกอฮอล์ นาน 20 นาที มีการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรียต่ำสุดเพียง 10% แต่กลับไม่พบการงอกของเมล็ดลิ้นงูเห่าเลย ทั้งนี้ อาจมีสาเหตุมาจากเนื้อเยื่อของเอ็มบริโอที่อยู่ภายในเมล็ดถูกทำลายอันเนื่องมาจากการแช่เมล็ดใน 95% แอลกอฮอล์ นานเกินไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณปราชญ์ชาวบ้านในพื้นที่อำเภอเชียงแสน จังหวัดเชียงราย ที่คอยให้ความช่วยเหลือในการลงพื้นที่สำรวจพืชสมุนไพรและข้อมูลพืชสมุนไพรตามภูมิปัญญาท้องถิ่น ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงรายที่สนับสนุนด้านงบประมาณการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- จิราภรณ์ ปาลี. (2016). การขยายพันธุ์ต้นลิงลาว (*Tupistra albiflora* K. Larsen) ในสภาพธรรมชาติ และการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. *Sci. & Tech. RMUTT J.* 6(2), 1 - 16.
- จันทร์เพ็ญ ใจซื่อ, สุรพล จิตตินากุล, สรายุทธ อ่อนสนิท และเยาวพรรณ สนธิกุล. (2562). เทคนิคการฟอกฆ่า เชื้อขึ้นส่วนต้นหม้อข้าวหม้อแกงลิงจากธรรมชาติเพื่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. *KHON KAEN AGR. J.* 47(SUPPL. 1), 1515 - 1520.
- นงนุช เลหาะวิสุทธิ, อัจฉรี เรืองเดช, สมเกียรติ สีสนอง และสมชาย หวังวิบูลย์กิจ. (2560). ผลของการฟอก ฆ่าเชื้อและสารควบคุมการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พรรณไม้ น้ำบุเชป *Bucephalandra sp.* วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 35(2), 95 - 103.
- ภพแก้ว พุทธิรักษ์, รัฐพร จันทร์เดช และวารุต อยู่คง. (2555). การขยายพันธุ์บอนสี กุหลาบหิน และคว่ำตาย หงายเป็น โดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง. 2, 1 - 15.
- ภพแก้ว พุทธิรักษ์ และวารุต อยู่คง. (2555). การขยายพันธุ์โมกพวง พุดจิบ รักขาว และรักม่วง โดยเทคนิค การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี). 4(7), 91 - 103.
- ภพแก้ว พุทธิรักษ์, วารุต อยู่คง และมณฑล สงวนเสริมศรี. (2554). การขยายพันธุ์ว่านสี่ทิศโดยการเพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารนเรศวรพะเยา. 4(3), 3 - 8.
- รุ่งอรุณ ดอนจันทร์ทอง, ณ. นพชัย ชาญศิลป์, สรรลภา สงวนดีกุล และณัฐวุฒิ รอดบุตร. (2560). การ เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบัวบกยักษ์ออสเตรเลีย (*Nymphaea gigantea*). วารสารวิจัย. 10(2), 1-7.
- รัตนา ขามฤทธิ์ และจิตรกร ปรีมน. (2562). การฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวและการชักนำให้เกิดต้นจากไรโซมของ ไพลในหลอดทดลอง. เกษตร. 47 ฉบับพิเศษ 1, 1393 - 1398.
- อุบล สมทรง. (2556). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส้มซ่า (*Citrus medica* L. var. *linetta* Risso). วารสาร เกษตรพระวรุณ. 10, 29 - 38.
- Jan, A., Bhat, K.M., Bhat, S.J.A., Mir, M.A., Bhat, M.A., Wani, I.A. and Rather, J.A. (2013). Surface sterilization method for reducing microbial contamination of field grown strawberry explants intended for in vitro culture. *Afr. J. Biotechnol.* 12, 5749 - 5753.
- Chotigamas, T., Sripaoraya, S., Gateprasert, M., Vanichsiratana, W. and Sirisansaneeyakul, S. (2009). The Tissue Culture Optimization for *Amorphophallus oncophyllus* Cell suspension for Konjac Glucomannan Production. <https://pdfs.semanticscholar.org/b630/2c901230d8164b59686411fce18d1764d8b7.pdf>



- Murashige, T. and Skoog, F. (1962). **A Revised Medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures.** *Physiol. Plant.* 15, 473 - 497.
- Palee, J., Dheeranupattana, S., Jatisatienr, A. and Wangkarn, S. (2013). **Effects of BA and NAA on Micropropagation and Stemona Alkaloids Production of Stemona curtisii Hook.f.** *Chiang Mai J. Sci.* 40(3), 356 – 363.
- Sen, M.K., Jamal, M.A.H.M. and Nasrin, S. (2013). **Sterilization factors affect seed germination and proliferation of Achyranthes aspera cultured in vitro.** *Environmental and Experimental Biology.* 11, 119 - 123.
- Talei, D., Saad. M.S., Yusop, M.K., Kadir, M.A. and Valdiani, A. (2011). **Effects of Different Surface Sterilizers on Seed Germination and Contamination of King of Bitters (Andrographis paniculata Nees.).** *Am-Euras. J. Agric. & Environ. Sci.* 10, 639 - 643.