



# รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการเพาะขยายพันธุ์หัวร้อยรู

(*Hydnophytum formicarum* Jack.)

“ได้รับทุนสนับสนุนจากกองทุนภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย”



โดย ผศ. ดร. ดวงแขชิตา กาญจนโสภา

สังกัด/หน่วยงาน คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี

วันที่ ๗ เดือน มิถุนายน ปี พ.ศ. ๒๕๖๒

## บทคัดย่อ

หัวร้อยรูเป็นพืชสมุนไพรที่ถูกนำไปใช้ในตำรับยาหอมพื้นบ้านของประเทศไทย โดยใช้ส่วนหัวประกอบในสูตรตำรับยา ปัจจุบันหัวร้อยรูในธรรมชาติมีปริมาณลดลง ประกอบกับการขยายพันธุ์หัวร้อยรูแบบไม่อาศัยเพศไม่สามารถสร้างหัวได้ มีเพียงการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเมล็ดเท่านั้น ที่ลำต้นใต้ใบเลี้ยงมีการขยายตัวไปเป็นหัว งานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาวัสดุเพาะที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโต และศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์หัวร้อยรูในสภาพปลอดเชื้อ เพาะเมล็ดหัวร้อยรูในวัสดุเพาะเป็นเวลา 35 วัน พบว่า เมล็ดหัวร้อยรูมีอัตราการงอกสูงที่สุด 84.99 เปอร์เซ็นต์ ในวัสดุเพาะขุยมะพร้าว: ทราย: ขี้เถ้า (1:1:1) ซึ่งทุกวัสดุเพาะจำนวนวันงอกโดยเฉลี่ย 14.36 วัน หลังจากนั้นนำต้นหัวร้อยรูย้ายลงปลูกในกระถางขนาด 6 นิ้ว ที่มีวัสดุเพาะเดิมเป็นระยะเวลา 9 เดือน พบว่าต้นกล้าหัวร้อยรูที่ย้ายปลูกในขุยมะพร้าว: ทราย: ขี้เถ้า (1:1:1) ทำให้ความกว้างหัวเพิ่มขึ้น 1.24 เซนติเมตร และให้ความสูงต้นเพิ่มขึ้นมากที่สุด 3.4 เซนติเมตร ซึ่งเป็นวัสดุเพาะที่มีส่วนผสมของขี้เถ้าไม่เพียงพอจะทำให้การงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของหัวร้อยรูดีที่สุด ในการปักชำกิ่งหัวร้อยรูโดยใช้วัสดุปลูก ขุยมะพร้าว: ทราย อัตราส่วน 1: 1 แล้วจุ่มโคนกิ่งปักชำด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ในความเข้มข้นต่างๆ และไม่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต (ชุดควบคุม) พบว่ากิ่งปักชำที่ไม่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงสุด 23.33 เปอร์เซ็นต์

ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์หัวร้อยรูในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้ชิ้นส่วนยอดจากต้นปลอดเชื้อ และเมล็ดหัวร้อยรูมาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS, ½ MS, B5, LS, SH และ WPM เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนยอดที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร ½ MS และ B5 เกิดยอดใหม่ได้มากที่สุด 100 เปอร์เซ็นต์ และเกิดใบเลี้ยงมากที่สุด 2.0 และ 2.3 ใบต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ ในขณะที่การเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร WPM เกิดรากเฉลี่ยมากที่สุด 4.0 รากต่อชิ้นส่วน และพบว่าการเพาะเลี้ยงเมล็ดบนสูตรอาหาร ½ MS มีเปอร์เซ็นต์การงอกเฉลี่ยสูง 98.33 เปอร์เซ็นต์ และมีความสูงต้นเฉลี่ยสูงสุด 2.59 เซนติเมตร และเมื่อเพาะเลี้ยงเมล็ดบนสูตรอาหาร B5 มีขนาดหัวเฉลี่ยสูงสุด 0.315 เซนติเมตร ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนใบ ยอด ลำต้น และหัว โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต ความเข้มข้นต่างๆ สูตรอาหารที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร กระตุ้นให้ชิ้นส่วนเกิดแคลลัสได้สูง 70 เปอร์เซ็นต์ และสูตรอาหารที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้แคลลัสมีน้ำหนักสูง 0.116 กรัม และพบว่าชิ้นส่วนยอดเป็นชิ้นส่วนที่มีศักยภาพในการกระตุ้นให้เกิดแคลลัสสูงสุด 80 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากชิ้นส่วนพืชมีเนื้อเยื่อเจริญจำนวนมาก

**คำสำคัญ:** หัวร้อยรู, การขยายพันธุ์, วัสดุเพาะ, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

## Abstract

Tubers of *Hydnophytum formicarum* Jack. (Rubiaceae) have been used in Thai traditional herbal medicine. However, *H. formicarum* in natural source have been decreased while it could not produce tubers by asexual propagation. Tubers are produced from trunk under cotyledon only plant reproducing by seedling method. Thus, this study determined suitable materials for seedling and growth of *H. formicarum* and investigated the suitable medium for *in vitro* propagation. The result revealed that the highest of seed germination rate was 84.99 % when growing seeds in coconut hull: sand: rubber tree sawdust (1:1:1) for 35 days and the average of germination time for all materials was 14.36 days. After transplanted seedlings in 6-inch pot with the same seedling material by prolong cultivation 9 months, the plantlets grew on rice husk charcoal: sand: sawdust (1:1:1) gave the highest of length of tubers (1.24 cm) and the highest of height of saplings (3.4 cm). Interestingly, seed germination and plantlet growth of *H. formicarum* had the best performance on seedling materials contained rubber tree sawdust. An asexual propagation by cutting stem dipped with NAA at various concentrations found that the cutting without hormone induction had the highest percentage of shooting at 23.33 %. The suitable medium on *H. formicarum* propagation was carried out using *in vitro* shoot explants and sterile seeds by culturing them on MS, ½ MS, B5, LS, SH and WPM agar medium for 5 weeks. The results revealed that the shoot explants cultured on ½ MS and B5 agar medium provided the maximum number of new shoots at 100% and new leaves at 2.0 and 2.3 leaves/explant, respectively, in additional, shoot explants cultured on WPM agar medium provided the maximum number of new roots at 4.0 roots/explant. For seeding cultivation, the best of seed germination (98.33%) and the highest shoot length (2.59 cm) were obtained on ½ MS agar medium, while, seeds grown on B5 agar medium resulted the largest tuber size at 0.315 cm. The callus induction was investigated using different explant sources such as leaves, shoot, stem and tuber culturing on medium containing various growth regulator concentrations. Callus was successfully induced at 70% when culturing on BA 2 mgL<sup>-1</sup> and NAA 2 mgL<sup>-1</sup>. The best of callus proliferation obtained on a medium containing BA 4 mgL<sup>-1</sup> and NAA 3 mgL<sup>-1</sup> at 0.116 g callus fresh weight. In this experiment, shoot explant is an efficacy response at 80% callus induction for the reason that shoot tip contain a large number of meristem tissue.

**Keywords:** *Hydnophytum formicarum*, propagation, seedling media, Tissue culture