

## บทที่ 2

### การตรวจสอบสาร

อาร์ติโชค (Globe Artichoke) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cynara scolymus L.* อยู่ใน Family Compositae ปัจจุบันพบประมาณ 140 สายพันธุ์ แต่ปลูกเป็นการค้าประมาณ 40 สายพันธุ์ (Foury, 1978) จำนวนโครโนโซม  $2n = 34$  (Fortunato, 1985) มีความใกล้เคียงทางสายพันธุ์กับ *Cynara cardunculus* และ *Cynara syriaca* เนื่องจากสามารถผสมข้ามแล้วให้ลูกผสมที่ไม่เป็นหมัน (Basniki, 1979) อาร์ติโชคเป็นพืชข้ามปี มีอายุเฉลี่ย 5 - 10 ปี เจริญได้ดีในสภาพอากาศที่มีลมออกซัด ในฤดูร้อน อุณหภูมิปานกลางในฤดูหนาว อุณหภูมิต่ำในเดือนกลางคืน ความชื้นสัมพัทธ์สูงตลอดปี อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตคือ  $16 - 25^{\circ}\text{C}$  ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า  $7.2^{\circ}\text{C}$  จะชะงักการเจริญเติบโต และคาดออกจะพักตัวเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า  $30^{\circ}\text{C}$

### ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ดอก (capitulum หรือ flower head) ประกอบด้วยฐานรองดอกแบบ discoidal ด้อมรอบด้วยกลีบเลี้ยง (bracts) ที่ซ้อนกันหลายชั้น ดอกมีลักษณะแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ เช่น ทรงกลม รี หรือ เหลี่ยม มีหลายสี เช่น ม่วง แดง และ เปีย ขนาดของดอกขึ้นกับความยาวของก้านดอกและตำแหน่งที่ดอกเจริญ ดอกขนาดใหญ่ที่สุดจะเกิดที่ก้านดอกหลัก รองลงมาคือดอกที่เจริญบนก้านดอกแขนง (Rossi and De paoli, 1992) ดอกอาร์ติโชคนี้มีเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียอยู่บนดอกเดียวกัน (monoecious self – sterile) เมื่อถึงระยะที่ดอกเปิด อันเรณู (anther) จะปล่อยละอองเรณู (pollen) ทึ่งอกได้ทันที แต่การผสมตัวเองจะไม่เกิดขึ้นถ้าโดยเกสรตัวเมีย (stigmata) ไม่เจริญเต็มที่ ละอองเรณู มีชีวิตอยู่ 4 - 5 วัน และอาจผสมกับดอกอื่นได้โดยอาศัยแมลง เป็นสาเหตุให้ระดับความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูงขึ้น (Ryder et al., 1987)

ใบ ขนาดใหญ่ กว้าง ขอบใบหยัก มีขนปุกคุณ อาจมีสีเขียวเข้ม หรือ สีเขียวปนเทา ลำต้น ตั้งตรง มีความสูงประมาณ  $90 - 120\text{ cm}$ . มีลำต้นใต้ดิน (rhizome) ขนาดใหญ่ ความกว้างของทรงพุ่มเฉลี่ย  $180\text{ cm}$ .

## คุณค่าทางอาหาร

ส่วนของดอกที่ใช้เป็นอาหารน้ำหนัก 100 กรัม ประกอบด้วย น้ำ 85 % โปรตีน 2.9 กรัม ไขมัน 0.2 กรัม คาร์โบไฮเดรต 10.9 กรัม เส้นใย 2.4 กรัม เด็ก้า 0.8 กรัม بوتاسيเม 430 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 88 มิลลิกรัม แคลเซียม 51 มิลลิกรัม โซเดียม 43 มิลลิกรัม กรดอะسكอยบิก 8 มิลลิกรัม เหล็ก 1.3 มิลลิกรัม ในอะซิน 1.0 มิลลิกรัม ไอโอดีน 0.08 มิลลิกรัม และไรโนฟลาวิน 0.05 มิลลิกรัม ในอดีตมีรายงานว่ารากราร์ติโซคต้มกับไวน์ใช้เป็นยาขับปัสสาวะ และช่วยระงับกลิ่นตัวได้ ส่วนที่มีสีเขียวมีสารที่มีประโยชน์ทางค้านการแพทย์หล่ายชนิด เช่น cynarin ช่วยในการขับน้ำย่อยและขัดพิษออกจากตับ อีกทั้งลดระดับ cholesterol ในเลือด และช่วยในการไหลของน้ำย่อยจากถุงน้ำดี (Leslie, no date)

ปัจจุบันมูลนิธิโครงการหลวงได้นำราร์ติโซคหล่ายสายพันธุ์มาปลูกทดสอบในพื้นที่ จังหวัดเชียงใหม่หล่ายพื้นที่ได้แก่ สถานีวิจัยอินทนนท์ อ.จอมทอง ศูนย์พัฒนาโครงการหลวง แก่นอย ต.เมืองนะ อ.เชียงดาว ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงแม่แทะ ต.แม่ wang อ.แม่แจ่ม และศูนย์พัฒนาโครงการหลวงหนองหอย ต.แม่เเรม อ.แม่ริม สายพันธุ์ที่ใช้ในการปลูกทดสอบมีดังนี้

**Grosso Romanesco** ความสูงในระยะออกดอกประมาณ 0.80 - 1.0 m. ความกว้างของพุ่มเฉลี่ย 1.0 ~ 1.2 m.

**HV 271** ความสูงเฉลี่ย 0.8 - 1.85 m. ความกว้างทรงพุ่มเฉลี่ย 1.0 - 2.5 m. ใบสีเขียวปนเทา ขอบใบเป็นแฉก ปลายใบแหลมตรง ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี ต้านทานต่อโรคโコンเน่า

**Violetto de provence** ความสูงเฉลี่ย 0.75 m. ความกว้างของทรงพุ่มเฉลี่ย 1.24 m.

## รายงานที่เกี่ยวข้องกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออาร์ติโโซค

Moncousin (1979) ทดลองใช้สบู่ล้างยอดอาร์ติโโซค ก่อนจุ่นใน ethanol 70 % เป็นเวลา 30 วินาที แล้วแช่ในสารละลายนาโนคลอรีซีด 4 % นาน 30 นาที จากนั้nl ล้างด้วยน้ำกลันน้ำม่าเชื้อ 3 ครั้ง Harbaoui and Debergh (1980) รายงานว่าสามารถเพาะเลี้ยงอาร์ติโโซคบนอาหารสังเคราะห์ที่เติม macroelements ของ MS (Murashige and Skoog (1962)) microelements ของ Nitsch and Nitsch + IAA 1.0 mg/l + GA<sub>3</sub> 0.01 mg/l + kinetin 2.0 – 5.0 mg/l + thiamine 0.4 mg/l + sucrose 20.0 g/l + agar 6.0 g/l pH 5.6 เพื่อเพิ่มจำนวนยอด เมื่อข้ายยอดลงบนอาหารเดิมที่เปลี่ยนชื่อเป็น IBA 2.0 mg/l จะมีอัตราการอกรากเท่ากับ 55 % ต่อมา Ancora *et al.* (1981) ทำการฟอกผ่าเชื้อยอดอาร์ติโโซค สายพันธุ์ Romanesco โดยจุ่นใน ethanol 70 % นาน 5 วินาที แช่ในสารละลายนาโนคลอรีซีด 1.5 % เป็นเวลา 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลันน้ำม่าเชื้อที่เติม ascorbic acid 100 mg/l แล้วเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS + NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 50.0 mg/l + L - tyrosine 100.0 mg/l + adenine 40.0 mg/l + IAA 0.5 mg/l + kinetin 10.0 mg/l + sucrose 40.0 g/l + agar 7.0 g/l pH 5.5 เป็นเวลา 6 สัปดาห์ จากนั้นข้ายลงบนอาหาร MS ที่ไม่เติม NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> แต่เติม kinetin 5.0 mg/l เพื่อให้ยอดเกิดการพัฒนา ชักนำให้เกิดรากด้วยอาหาร Half - macro MS + Thiamine - HCl 1.0 mg/l + myo - inositol 100.0 mg/l + ascorbic acid 10.0 mg/l + NAA 2.0 mg/l + sucrose 20.0 g/l pH 5.5 พบว่ามีอัตราการอกรากถึง 84 % ขณะที่ Moncousin (1981) ทดลองใช้อาหารที่ประกอบด้วย macroelements ของ MS microelement ของ Gamborg + 2iP 10.0 mg/l + IAA 0.1 mg/l + GA<sub>3</sub> 0.5 mg/l + adenine 100.0 mg/l + sucrose 20.0 g/l + agar 7.0 g/l pH 5.7 ชักนำให้เกิดการแตกกอ แล้วเพาะเลี้ยงยอดบนอาหาร Half - macro MS + NAA 0.1 mg/l + tyrosine 50.0 mg/l + sucrose 20.0 g/l + agar 8.0 g/l ซึ่งทำให้มีอัตราการอกรากเท่ากับ 75 % Benoit and Ducreux (1981) รายงานว่าอาหาร Half strength Knop สามารถชักนำให้เมล็ดอาร์ติโโซคเกิดการงอกได้ จากนั้นข้ายลงบนอาหาร MS ตัดแปลงที่มี BA และ IBA เพื่อช่วยในการเจริญของตัว ปรากฏว่าอาหารที่เติม BA 0.4 mg/l และ IBA 1.0 mg/l ให้ผลดีที่สุด เนื่องจากสามารถชักนำให้เกิดต้น 50 ต้นต่อ 1 เมล็ด ภายในระยะเวลา 2 เดือน แต่มีเพาะเลี้ยงยอดกลับลงบนอาหาร Half strength Knop จะเกิดอัตราการอกรากเพียง 1 % เท่านั้น นอกจากนี้ Petri and Ricci (1981) ศึกษาการเพาะเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของอาร์ติโโซค พบร้าอาหาร Bourgin and Nitsch + kinetin 1.0 mg/l + NAA 0.5 mg/l + sugar 18.0 g/l สามารถชักนำให้ rhizome ที่เก็บในช่วงเดือนกันยายนถึงเดือนตุลาคม เจริญเป็นยอดที่มีความสูง 3 - 5 cm. ภายใน 7 วัน และเกิดรากในภายในหลังต่อนา Harbaoui (1982) ทดลองแช่ชิ้นพืชในสารละลายนาโนคลอรีซีด 4 % ที่เติม ascorbic acid 100.0 mg/l และ citric acid 150.0 mg/l ก่อนฟอกในสารละลายนาโนคลอรีซีด 5.0 g/l และ teepol นาน 5 นาที แล้วแช่ในสารละลายนาโนคลอรีซีด 1 % เป็นเวลา 15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลันน้ำม่าเชื้อ สำหรับ Pecaut *et al.* (1983)

ทดลองจุ่นปลายยอดอาร์ติโโซคใน ethanol 70 % 5 วินาที แล้วแช่ใน Mecrylauryel นาน 5 นาที จากนั้นฟอกผ่าเชื้อด้วยสารละลายน้ำ NaOCl 5 % เป็นเวลา 10 นาที เพาะเลี้ยงยอดอาร์ติโโซคบนอาหาร Half - strength MS + NAA 0.5 mg/l + kinetin 0.05 mg/l เก็บไว้ในที่มีอุณหภูมิ 25 ° C เป็นเวลา 20 วัน แล้วนำออกปลูกในโรงเรือน พบว่าต้นอาร์ติโโซคออกรากถึง 70 % ภายใน 4 สัปดาห์ ต่อมา Bigot and Foury (1984) เพาะเลี้ยงอาร์ติโโซคบนอาหาร MS + kinetin 1.0 mg/l + NAA 0.1 mg/l + sucrose 30.0 g/l + adenine 40.0 mg/l + agar 7.0 g/l pH 5.5 แล้วขักนำให้เกิดรากด้วยอาหาร Half - macro MS + NAA 0.1 g/l + activated charcoal 2.0 g/l + agar 7.0 g/l pH 5.5 พบว่ามีอัตราการเกิดรากเท่ากับ 77 % Fortunato (1985) รายงานว่าอาหาร MS + BA 10.0 mg/l + NAA 5.0 mg/l + GA<sub>3</sub> 0.1 mg/l สามารถขักนำให้เกิดอัตราการแตก根 5 : 1 ต้นภายใน 20 วัน ส่วนอาหาร MS + 2iP 1.0 mg/l + IAA 1.0 mg/l + GA<sub>3</sub> 0.025 mg/l เป็นอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต จากนั้นขี้ยலงอาหาร MS + IAA 20.0 mg/l เพื่อขักนำให้เกิดราก และพบว่าอาร์ติโโซคนี้มีจำนวนโครโนโซน  $2n = 34$  Rossi and De Paoli (1986) ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออาร์ติโโซคด้วยอาหาร MS + BAP 0.05 mg/l + IAA 0.5 mg/l + sucrose 20.0 g/l + agar 7.0 g/l pH 5.8 จากนั้นเพาะเลี้ยงยอดบนอาหาร MS + IAA 2.0 mg/l + NAA 2.0 mg/l + sucrose 20.0 g/l + agar 7.0 g/l pH 5.8 พบว่าอัตราการออกรากเท่ากับ 48.5 % Suelzu *et al.* (1989) ตัดปลายยอดขนาด 1 - 3 mm. จากหน่ออาร์ติโโซคสายพันธุ์ Spinoso Sado ที่เกิดในฤดูใบไม้ร่วง นำมาเพาะเลี้ยงใน CRYO substrate 4 ชนิด โดยวางไว้ภายในตู้เย็นต่อเนื่อง 4 วัน ได้แก่ ขาว แดง far - red หรือ น้ำเงิน พบว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วย CRYO substrate ที่ประกอบด้วยอาหาร MS + monosodium phosphate + IAA 0.5 mg/l + kinetin 10.0 mg/l + tyrosine 100.0 mg/l + adenine 40.0 mg/l + sucrose 30.0 g/l ภายในตู้เย็นมีอัตราการเกิดต้นดีที่สุดคือ 3 : 1 และมีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 100 % Ordas *et al.* (1990) ฟอกผ่าเชื้อโดยการอ่อน化ของอาร์ติโโซคสายพันธุ์ Romanesco ที่มีขนาด 1.5 - 2.0 cm. โดยแช่ในสารละลายน้ำ HgCl<sub>2</sub> 5.0 g/l นาน 3 นาที แล้วแช่ในสารละลายน้ำ NaOCl 20 % 3 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นผ่านเชือกที่เติม ascorbic acid 100.0 mg/l และ citric acid 150.0 mg/l จากนั้นเพาะเลี้ยงกึ่งเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม IAA, NAA, IBA, BAP และ 2iP ในปริมาณที่แตกต่างกัน พบว่าอาหารที่ขักนำให้เกิดแคคลัสได้ดีที่สุดคืออาหาร MS + NAA 5.0 mg/l + BA 2.0 mg/l + sucrose 30.0 g/l + agar 8.0 g/l pH 5.8 โดยแคคลัสจะพัฒนาเป็นยอดภายหลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์ จากนั้นขี้ยลงบนอาหาร MS + IBA 0.5 mg/l + BA 0.5 mg/l เพื่อเพิ่มความยาวของยอด ขณะที่ Lauzer and Vieth (1990) ทดลองแข่งขันด้วย NaOCl 12 % นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านเชือกแล้ว 3 ครั้ง ต่อมา Kanakis and Demitriou (1990) ศึกษาผลของ Thidiazuron ที่มีต่อการสร้างยอดที่เจริญจาก

ตัวอ่อนมีราก (adventitious shoot) ของอาร์ติโซคสายพันธุ์ Argos โดยเริ่มจากแช่ยอดใน ethanol 70 % นาน 5 วินาที จากนั้นฟอกผ่านเชื้อในสารละลายน้ำ NaOCl 19 % เป็นเวลา 15 นาที แล้วถังด้วยสารละลายน้ำเชื้อที่เติม ascorbic acid 100.0 mg/l 4 - 5 ครั้ง พนว่าอาหาร MS + ascorbic acid 100.0 mg/l + IAA 0.1 mg/l + sucrose 40.0 g/l + agar 7.0 g/l pH 5.6 ที่เติม Thidiazuron 1.0 – 5.0 mg/l สามารถชักนำให้เกิด adventitious shoot ได้ และเมื่อขึ้น explants ลงบนอาหารที่ไม่มีไซโตไคนิน หรือ Thidiazuron แล้ว explants ยังสามารถสร้าง adventitious shoot ต่อไปได้ ซึ่งเหตุการณ์นี้จะไม่เกิดกับ explants ที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม kinetin หรือ BAP Giovanni (1996) ทำการล้างยอดที่เกิดจากต่ำต้น (ovoli) ของอาร์ติโซคสายพันธุ์ Violetto Spinoso di Sicilia ด้วยน้ำเหล้า 15 นาที แล้วจุ่นใน ethanol 70 % เป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นแช่ในสารละลายน้ำ NaOCl 1.05 % 30 นาที ถังด้วยสารละลายน้ำเชื้อที่เติม ascorbic acid 100.0 mg/l 3 ครั้ง ทดสอบสูตรอาหารเพื่อบาบี้พันธุ์โดยใช้ไซโตไคนินในรูป kinetin, zeatin และ 2iP พนว่าอาหาร MS + BA 1.0 mg/l + sucrose 30.0 g/l + ascorbic acid 10.0 mg/l + agar 8.0 g/l pH 5.7 ทำให้เกิดอัตราการแตกกอได้ดีที่สุด จากนั้นชักนำให้เกิดรากด้วยอาหาร Half - macro MS + IAA 2.0 mg/l มีผลให้อัตราการอกรากเท่ากับ 60 % ภายในเวลา 5 สัปดาห์ และมีอัตราการอยู่รอดเมื่อออกปลูกเท่ากับ 70 % นอกจากนี้ Morzadec and Hourmant (1997) รายงานว่าอาหาร Half - macro MS + activated charcoal 2.0 g/l + sucrose 30.0 g/l + agar 8.0 g/l pH 5.8 ที่เติมเพียง NAA 0.5 mg/l หรือเติม NAA 0.5 mg/l ร่วมกับ GA<sub>3</sub> 1.0 mg/l และ GA<sub>3</sub> 2.0 mg/l สามารถทำให้อาร์ติโซคสายพันธุ์ Camus de Bretagne มีอัตราการอกรากในสภาพปลดเชื้อ 50-80.5 และ 92.3 % ตามลำดับ Brutti *et al.* (2000) บยาบพันธุ์อาร์ติโซคสายพันธุ์ Early French โดยแช่ยอดในสารละลายน้ำ mercury dichloride 5 g/l นาน 5 นาที แล้วฟอกผ่านเชื้อตัวสารละลายน้ำ NaOCl 17 % เป็นเวลา 10 นาที ถังด้วยน้ำกลั่นผ่านเชื้อ 3 ครั้ง จากนั้นแช่ยอดในสารละลายน้ำที่เติม ascorbic acid 100.0 mg/l และ citric acid 150.0 mg/l ก่อนที่จะนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS (basic medium) ที่ลด NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> และ KNO<sub>3</sub> ลง 50% + micronutrients ของ Heller วิตามินของ Gamborg + 2iP 1.0 mg/l + NAA 0.1 mg/l + m - inositol 100 mg/l + saccharose 30.0 g/l + agar 8.0 g/l แล้วชักนำให้แตกกอตัว basic medium + 2iP 10.0 mg/l + kinetin 2.0 mg/l + NAA 0.5 mg/l + adenine sulphate 80.0 mg/l ซึ่งทำให้เกิดอัตราการแตกกอเท่ากับ 3 : 1 จากนั้นชักนำให้อกรากด้วย basic medium + cyclodextrin + NAA 3.0 mg/l + saccharose 20.0 g/l + agar 6.0 g/l พนว่าอาหารที่เติม cyclodextrin มีผลทำให้จำนวนรากเพิ่มขึ้นและอัตราการอกรากสูงขึ้น 3 เท่า เมื่อนำออกปลูกทดสอบมีอัตราการอยู่รอด 70 %

## การปลูกทดสอบ

ขั้นตอนสุดท้ายของการขยายพันธุ์อาร์ติโซคด้วยการเพาะเดี่ยงเนื้อเยื่อคือการทำให้ต้นที่เกิดจากการทดลองสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมภายนอกห้องทดลองได้ Rossi and De Paoli (1992) พบว่าเมื่อย้ายต้นพืชออกปลูก ต้นที่มีความสูงประมาณ 3 - 4 cm. และมีราก 3 - 4 راك มีอัตราการอ่อนตัวลดลงกว่าต้นขนาดเดียวกันที่มีรากเพียง 1 ราก ช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการนำอาร์ติโซคออกปลูกลงแปลงคือปลายฤดูหนาว ต้นถูกใบไม้ผลิและปลายฤดูร้อน ส่วนต้นที่จะปลูกลงแปลงควรมีความสูงประมาณ 10 - 15 cm. อีกทั้งมีระบบบำรุงที่ดีเพราจะทำให้อัตราการอ่อนตัวลดลงมาก Ancora *et al.* (1981) ทดลองปลูกอาร์ติโซคโดยใช้ peat 80% และ perlite 20% เป็นวัสดุปลูก Giovanni (1996) ปลูกอาร์ติโซคในดินหลุม กลุ่มด้วยพลาสติกใสเป็นเวลา 2 สัปดาห์ เพื่อรักษาความชื้น วางไว้ในโรงเรือนที่มีแสงผ่าน 70 % อุณหภูมิตอนกลางวัน 18 - 24 °C และอุณหภูมิตอนกลางคืน 10 - 16 °C ข้ามพิชที่มีอายุ 2 เดือนลงในกระถางที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 cm. จากนั้นวางไว้ในโรงเรือนที่มีแสงผ่าน 70 % อุณหภูมิตอนกลางวันประมาณ 21 - 27 °C อุณหภูมิตอนกลางคืนประมาณ 14 - 20 °C พบว่ามีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 70 % Brutti *et al.* (2000) ทดลองปลูกอาร์ติโซคโดยใช้ peat และ perlite ในอัตราส่วน 3 : 1 เป็นวัสดุปลูก แล้วกลุ่มด้วยถุง nylon เก็บไว้ในโรงเรือนเป็นเวลา 30 วัน