รายงานผลวิจัยเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด ปี 2556

ชุดโครงการวิจัย

โครงการวิจัย พัฒนาองค์ความรู้และเทคโนโลยีการผลิตตะไคร้ต้นบนที่สูง

กิจกรรม

ชื่อการทดลอง การขยายพันธุ์ตะไคร้ต้นด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Propagation by Tissue Culture *Litsea cubeba* Pers.

คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง วิมล แก้วสีดา[1/]

ผู้ร่วมงาน สุปัน ไม้ดัดจันทร์[1/] ไว อินต๊ะแก้ว[1/]

บทคัดย่อ

การศึกษาการขยายพันธุ์ตะไคร้ต้นด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่า การนำส่วนของลำต้นอ่อน ซึ่งเป็นชิ้นส่วนที่เหมาะสำหรับการนำมาฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในสารละลายคลอรอกซ์ที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที, สารละลายคลอรอกซ์ที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที และสารละลายคลอรอกซ์ที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที และ ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที มากกว่าส่วนของใบ ก้านใบ ลำต้นอ่อน และผล พบว่ามีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์น้อยที่สุดประมาณ 70-80 เปอร์เซ็นต์ การผลิต embryogenic callus ไม่ประสบความสำเร็จ แต่สามารถได้สูตรอาหารที่สามารถเพิ่มปริมาณต้นเนื้อเยื่อ คือ การนำส่วนลำต้นอ่อน มาเลี้ยงในอาหาร MS ที่มี BA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงนานประมาณ 2 สัปดาห์ ชิ้นพืช มีการขยายขนาดและเริ่มแตกต้นอ่อน เลี้ยงต่อ ประมาณ 1 เดือนพบว่า ได้ต้นอ่อน ประมาณ 8-10 ต้น แต่ต้นมีลักษณะอวบน้ำ ไม่แข็งแรง จึงนำต้นอ่อน มาเลี้ยงในอาหาร MS ที่ไม่มีการเติมฮอร์โมนใดๆ นานประมาณ 45 วัน พบว่า ได้ต้นที่สมบูรณ์ สามารถนำไปชักนำให้เกิดรากโดยนำไปเลี้ยงในอาหาร MS ที่มี IAA, IBA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 60 วัน แต่ไม่สามารถชักนำให้เกิดรากในสภาพปลอดเชื้อได้ จึงนำต้นเนื้อเยื่อที่สมบูรณ์ มาปรับสภาพต้นโดยนำขวดเนื้อเยื่อวางในห้องที่มีสภาพอุณหภูมิปกติ ประมาณ 1 สัปดาห์ ล้างวุ้นออก ตัดเนื้อเยื่อบริเวณโคนต้นออกเล็กน้อย และนำมาจุ่มในสารกระตุ้นการเจริญของราก 4- อินโดล–3 บิวทิริกแอซิค 0.3% น้ำหนักโดยปริมาตร เป็นเวลา 20 นาที ชำในตะกร้าพลาสติกที่มีทรายและขุยมะพร้าว เป็นวัสดุเพาะ ต้นสามารถออกรากได้หลังการอนุบาล เป็นเวลา 45 วัน

รหัสการทดลอง 02 – 01 – 54 – 05 – 00 - 00 – 02 - 54

[1/] ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สถาบันวิจัยพืชสวน

คำนำ

ตะไคร้ต้น *Litsea cubeba* (Lour.) Pers. เป็นพืชสมุนไพร มีการนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง ตะไคร้ต้นเป็นพืชที่ไม่ผลัดใบความสูง 5-12 เมตร มีถิ่นกำเนิดในประเทศจีน อินโดนีเซีย ไต้หวัน และประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ในประเทศไทยพบตะไคร้ต้นในป่าธรรมชาติ ซึ่งมีความสูงจากระดับน้ำทะเลมากกว่า 700 เมตร (สำนักวิชาการป่าไม้, 2531) เช่น พื้นที่สถานีพัฒนาการเกษตรที่สูงตามพระราชดำริปางขอน ดอยช้าง และดอยวาวี จังหวัดเชียงราย ตลอดจนในจังหวัดเชียงใหม่ น่าน และแม่ฮ่องสอน ปัจจุบันมีการนำตะไคร้ต้นมาใช้ประโยชน์ โดยการนำผลมาสกัดน้ำมันหอมระเหยเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นของผลิตภัณฑ์หอมระเหยต่างๆ ในต่างประเทศมีการผลิตน้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ต้น ซึ่งมีราคาซื้อขายค่อนข้างสูง (เบญจวรรณ, 2542 ; สลี และปราณี, 2524) ทั้งนี้เพราะปริมาณผลตะไคร้ต้นยังมีน้อย ซึ่งมีสาเหตุมาจากหลายประการได้แก่ จำนวนตะไคร้ต้นที่ขึ้นอยู่ในป่าธรรมชาติยังประสบปัญหาศัตรูพืชรบกวนต้น แสดงอาการทรุดโทรม และตายในที่สุดทำให้ปริมาณตะไคร้ต้นซึ่งมีน้อยอยู่แล้วมีจำนวนลดลงไปเรื่อยๆ ซึ่งในธรรมชาติการขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดทำได้ช้าและยาก เนื่องจากเมล็ดมีการพักตัวประมาณ 3 ปี และไม่สามารถขยายพันธุ์ด้วยวิธีการตอน หรือปักชำกิ่ง ได้

จะเห็นได้ว่าการใช้น้ำมันหอมระเหยจากตะไคร้ต้นมีแนวโน้มมากขึ้น ทำให้ตะไคร้ต้นมีโอกาสเป็นพืชอุตสาหกรรมใหม่ต่อไป ตะไคร้ต้นเป็นพืชที่พบเฉพาะที่สูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งบนสถานีพัฒนาเกษตรที่สูงตามพระราชดำริบ้านปางขอน โดยในสภาพที่พบในปัจจุบันตะไคร้ต้นถูกศัตรูพืชรบกวนมากทำให้เหลือจำนวนต้นลดลง ประกอบกับมีผู้สนใจต้องการปลูกเป็นพืชเศรษฐกิจ แต่ยังขาดต้นกล้าที่ใช้ปลูกเนื่องจาก การขยายพันธุ์ตะไคร้ต้นในธรรมชาติทำได้ยาก เนื่องจากเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำหรือไม่งอกเลยในสภาพการเพาะเมล็ดโดยทั่วไป และไม่สามารถปักชำได้ การขยายพันธุ์ตะไคร้ต้นด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อาจเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่จะทำให้การขยายพันธุ์ตะไคร้ต้นประสบความสำเร็จ

วิธีการดำเนินการ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เปรียบเทียบสูตรอาหารเพื่อชักนำเนื้อเยื่อส่วนตาข้าง และต้นอ่อนให้เกิดแคลลัส

นำส่วนของใบ ก้านใบ ลำต้นอ่อน และผล มาฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ที่ ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที สารละลายคลอรอกซ์ที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที และสารละลายคลอรอกซ์ที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที และนำมาวางบนอาหารสูตร MS

วางแผนการทดลองแบบ CRD 15 กรรมวิธีๆ ละ 10 ซ้ำ

หน่วยการทดลองละ 1 ชิ้นส่วน เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS (Murashige & Skoog(1962))

ประกอบด้วย 2 ปัจจัย

ปัจจัยที่ 1 ความเข้มข้นของ BA 5 ระดับ ได้แก่ 0, 0.5, 1.0 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปัจจัยที่ 2 ความเข้มข้นของ NAA 3 ระดับ ได้แก่ 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

โดยมีอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนเป็นสูตรเปรียบเทียบ

การบันทึกข้อมูล

- การเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อ
- ระยะเวลาการเกิดแคลลัส
- ลักษณะแคลลัส

2. เปรียบเทียบสูตรอาหารที่ชักนำให้เกิดราก

นำยอดที่ได้จากข้อ 1 เพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ตามกรรมวิธีต่างๆ

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 กรรมวิธี ๆ ละ 5 ซ้ำ

หน่วยการทดลองละ 10 ชิ้นส่วน เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS

กรรมวิธีที่ 1 IAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 2 IAA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 3 IAA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 4 อาหารสูตร MS ที่ไม่มีการเติมฮอร์โมน

การบันทึกข้อมูล : ความสูงต้น จำนวนใบ จำนวนราก ความยาวราก

นำต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีต้นและรากสมบูรณ์ย้ายปลูกในแกลบดำปนทรายอัตราส่วน 1 : 1

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2553 – กันยายน 2556 รวม 3 ปี

สถานที่ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย สถาบันวิจัยพืชสวน

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ขั้นตอนที่ 1 ชิ้นส่วนพืช : นำส่วนของใบ ก้านใบ ลำต้นอ่อน และผล มาฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยสารละลายคลอรอกซ์ ที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที , สารละลายคลอรอกซ์ที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที และสารละลายคลอรอกซ์ที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที และทุกกรรมวิธีล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที และนำมาวางบนอาหารสูตร MS

พบว่า ส่วนของผล และใบไม่สามารถฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ เนื่องจาก ส่วนของใบเมื่อแช่ในสารละลายคลอรอกซ์แล้วใบจะฉ่ำน้ำ ไม่สามารถนำมาทดลองต่อไปได้ ส่วนของผล ไม่เหมาะสมที่จะนำมาฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ตามกรรมวิธีได้เนื่องจากไม่สามารถนำส่วนของเอมบริโอออกมาวางบนสูตรอาหารได้ และ พบว่า ส่วน

ของลำต้นอ่อนมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์น้อยที่สุดประมาณ 70-80 เปอร์เซ็นต์ และมีการพัฒนาชิ้นพืชได้เป็นแคลลัสมากกว่าส่วนของก้านใบ

ขั้นตอนที่ 2 แคลลัส : การชักนำชิ้นส่วนพืชให้เกิดแคลลัส

ได้ทดลองชักนำชิ้นส่วนของลำต้นอ่อนมาชักนำให้เกิดแคลลัสในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงในอาหาร MS (Murashige & Skoog 1962) ที่มี BA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้

ความเข้มข้นของ BA 5 ระดับ ได้แก่ 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ความเข้มข้นของ NAA 3 ระดับ ได้แก่ 0, 0.5 และ1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

พบว่า 1.) ส่วนของลำต้นอ่อน ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม BA 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดแคลลัสได้เร็ว(หลังจากวางบนอาหารประมาณ 2 สัปดาห์) และลักษณะแคลลัสมีสีเขียวอ่อน แต่แคลลัสที่ได้เกาะกันแน่น(ภาพที่ 1) และแคลลัสอายุได้ประมาณ 1 เดือน แคลลัสจะเริ่มดำและไม่มีการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณต่อไป จึงไม่ได้นำแคลลัสจากขั้นตอนนี้ไปทดลองในขั้นตอนการชักนำแคลลัสให้เกิดต้นเนื้อเยื่อ

2.) ส่วนของลำต้นอ่อน ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม BA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งสามารถเพิ่มจำนวนยอดตะไคร้ต้นได้มากสุดประมาณ 8-10 ยอด (ภาพที่ 2) แต่ลักษณะยอดที่ได้จะอวบน้ำซึ่งยังไม่สามารถนำไปพัฒนาให้เกิดรากได้ จึงได้เพิ่มปริมาณจำนวนยอดอ่อน และนำไปวางบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนใดๆ เพื่อให้ได้ต้นที่มีลักษณะสมบูรณ์แข็งแรงและไม่อวบน้ำ เพื่อนำต้นเนื้อเยื่อที่ได้ไปทดสอบสูตรอาหารที่จะชักนำให้เกิดราก

ภาพที่ 1 ลักษณะของแคลลัสของส่วนของลำต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ภาพที่ 2 ลักษณะของต้นอ่อนที่ได้จากส่วนของลำต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม BA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

การทดลองชักนำชิ้นส่วนของลำต้นอ่อนมาชักนำให้เกิดแคลลัสในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่มี Kinetin และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้

ความเข้มข้นของ Kinetin 5 ระดับ ได้แก่ 0, 0.5, 1.0 , 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ความเข้มข้นของ NAA 3 ระดับ ได้แก่ 0, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

พบว่า 1.) ส่วนของลำต้นอ่อน ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม Kinetin 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดแคลลัสได้เร็ว(หลังจากวางบนอาหารประมาณ 2 สัปดาห์) และลักษณะแคลลัสมีสีเขียวอ่อน แต่แคลลัสที่ได้เกาะกันแน่น และแคลลัสอายุได้ประมาณ 1 เดือน แคลลัสจะเริ่มดำและไม่มีการเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณต่อไป จึงไม่ได้นำแคลลัสจากขั้นตอนนี้ไปทดลองในขั้นตอนการชักนำแคลลัสให้เกิดต้นเนื้อเยื่อ

2.) ส่วนของลำต้นอ่อน ที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม Kinetin 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งสามารถเพิ่มจำนวนยอดตะไคร้ต้นได้มากสุดประมาณ 6 - 8 ยอด แต่ลักษณะยอดที่ได้จะอวบน้ำซึ่งยังไม่สามารถนำไปพัฒนาให้เกิดรากได้ จึงได้เพิ่มปริมาณจำนวนยอดอ่อน และนำไปวางบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมฮอร์โมนใดๆ เพื่อให้ได้ต้นที่มีลักษณะสมบูรณ์แข็งแรงและไม่อวบน้ำ เพื่อนำต้นเนื้อเยื่อที่ได้ไปทดสอบสูตรอาหารที่จะชักนำให้เกิดราก

จากการทดลองพบว่า ลักษณะของต้นอ่อนที่ได้จากส่วนของลำต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม BA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้จำนวนยอดมากกว่าที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม Kinetin 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ขั้นที่ 3 การชักนำให้เกิดราก

เนื้อเยื่อที่ใช้ต้นที่ได้จากการชักนำให้เกิดยอดจากสูตร MS+BA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ย้ายลงในอาหารสูตร MS เป็นเวลา 45 วัน เพื่อให้ต้นมีการเจริญเติบโตได้ต้นและใบที่สมบูรณ์ (ภาพที่ 3, 4)

MS+BA 1.5มก./ล. MS MS

ภาพที่ 3 แสดงลำดับการเตรียมต้นเนื้อเยื่อเพื่อนำไปทดสอบการชักนำให้เกิดราก

ภาพที่ 4 ลักษณะของต้นเนื้อเยื่อที่สมบูรณ์ ที่ได้จากการนำต้นอ่อนที่ได้จากอาหาร MS ที่เติม BA 1.5 มก./ล ไปเลี้ยงต่อในอาหาร MS นาน 45 วัน

จากการนำต้นเนื้อเยื่อที่ได้มาทดสอบสูตรอาหารที่จะชักนำให้เกิดราก โดยเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ตามกรรมวิธีต่างๆ หน่วยการทดลองละ 10 ชิ้นส่วน เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 กรรมวิธี ๆ ละ 5 ซ้ำ

กรรมวิธีที่ 1 IAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 2 IAA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 3 IAA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 4 อาหารสูตร MS ที่ไม่มีการเติมฮอร์โมน

พบว่า ต้นเนื้อเยื่อที่นำมาทดสอบไม่ตอบสนองต่อฮอร์โมนที่ใช้ทดสอบ ทุกระดับความเข้มข้น คือไม่เกิดราก จึงได้เปลี่ยนสูตรอาหารเพื่อหาสูตรอาหารที่สามารถชักนำต้นเนื้อเยื่อให้เกิดรากได้ โดยนำต้นเนื้อเยื่อที่ได้มาทดสอบสูตรอาหารที่จะชักนำให้เกิดราก เพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ตามกรรมวิธีต่างๆ

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 กรรมวิธี ๆ ละ 5 ซ้ำ

หน่วยการทดลองละ 10 ชิ้นส่วน เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS

กรรมวิธีที่ 1 IBA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 2 IBA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 3 IBA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 4 อาหารสูตร MS ที่ไม่มีการเติมฮอร์โมน

พบว่า ต้นเนื้อเยื่อที่นำมาทดสอบไม่ตอบสนองต่อฮอร์โมนที่ใช้ทดสอบ ทุกระดับความเข้มข้น คือไม่เกิดราก จึงได้เปลี่ยนสูตรอาหารเพื่อหาสูตรอาหารที่สามารถชักนำต้นเนื้อเยื่อให้เกิดรากได้ โดยนำต้นเนื้อเยื่อที่ได้มาทดสอบสูตรอาหารที่จะชักนำให้เกิดราก เพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ตามกรรมวิธีต่างๆ

วางแผนการทดลองแบบ CRD 4 กรรมวิธี ๆ ละ 5 ซ้ำ

หน่วยการทดลองละ 10 ชิ้นส่วน เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS

กรรมวิธีที่ 1 NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 2 NAA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 3 NAA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 4 อาหารสูตร MS ที่ไม่มีการเติมฮอร์โมน

พบว่า ต้นเนื้อเยื่อที่นำมาทดสอบไม่ตอบสนองต่อฮอร์โมนที่ใช้ทดสอบ ทุกระดับความเข้มข้น คือไม่เกิดราก จึงได้เปลี่ยนสูตรอาหารเพื่อหาสูตรอาหารที่สามารถชักนำต้นเนื้อเยื่อให้เกิดรากได้ โดยนำต้นเนื้อเยื่อที่ได้มาทดสอบสูตรอาหารที่จะชักนำให้เกิดราก เพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ตามกรรมวิธีต่างๆ

ทดสอบสูตรอาหาร โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD 10 ซ้ำ 9 กรรมวิธี

ได้แก่ สูตรอาหาร 9 สูตร MS + IBA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

1/2 MS+ IBA ที่ระดับความเข้มข้น 0 ,0.5 และ1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

1/4 MS+ IBA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วันพบว่า สูตรอาหารทั้ง 9 สูตรไม่สามารถชักนำให้เนื้อเยื่อออกรากได้ แต่สูตร 1/2 MS+ IBA 0.5 มก./ล. มีแนวโน้มที่จะออกรากเนื่องจากเกิดกระจุกแคลลัสคล้ายตุ่มรากสั้นๆ

- ทดสอบสูตรอาหาร โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD 10 ซ้ำ 6 กรรมวิธี ได้แก่ สูตรอาหาร 6 สูตร

1/2 MS

1/2 MS + IBA 0.5 และ NAA 0 .5 มิลลิกรัมต่อลิตร

1/2 MS + IBA 0.5 และ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

1/4 MS

1/4 MS + IBA 0.5 และ NAA 0 .5 มิลลิกรัมต่อลิตร

1/4 MS + IBA 0.5 และ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรล.

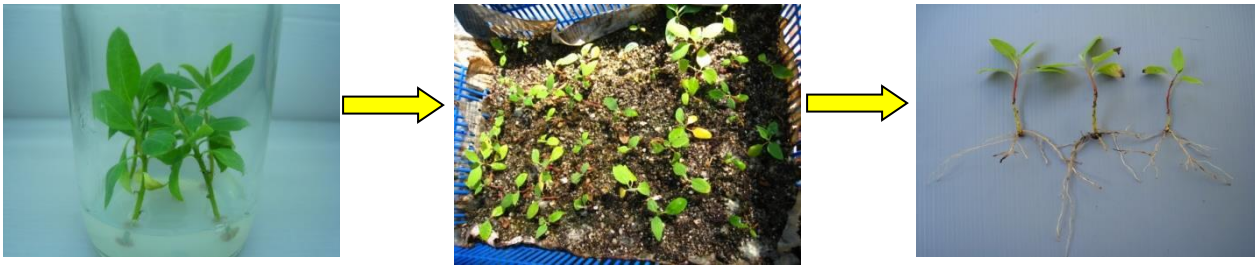
หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 60 วันพบว่า สูตรอาหารทั้ง 6 สูตรไม่สามารถชักนำให้เนื้อเยื่อออกรากได้

การทดลองการออกรากของตะไคร้โดยการชำต้นเนื้อเยื่อ

1. นำต้นที่ได้จากการชักนำให้เกิดยอดจากสูตร MS+BA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ย้ายลงในอาหารสูตร MS เป็นเวลา 45 วัน เพื่อให้ต้นมีการเจริญเติบโต ได้ต้นและใบที่สมบูรณ์
2. นำต้นเนื้อเยื่อที่ได้จากข้อ 1. มาปรับสภาพต้นโดยนำขวดเนื้อเยื่อวางในห้องที่มีสภาพอุณหภูมิปกติประมาณ

1 สัปดาห์

3. นำต้นเนื้อเยื่อออกจากขวด ล้างวุ้นที่ติดอยู่บริเวณโคนต้นออกให้หมด
4. ตัดเนื้อเยื่อบริเวณโคนต้นออกเล็กน้อย จุ่มลงในสารเร่งการเจริญเติบโตของราก (root grow: - อินโดล - 3 บิวทิริกแอซิค 0.3% น้ำหนักโดยปริมาตร) เป็นเวลา 20 นาที ชำในตะกร้าพลาสติกที่มีทราย และขุยมะพร้าวเป็นวัสดุปลูก ต้นสามารถออกรากหลังอนุบาลเป็นเวลา 45 วัน (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 แสดงการออกรากของต้นเนื้อเยื่อ หลังจุ่มในสารเร่งการเจริญเติบโตของราก นาน 20 นาที และเลี้ยงในวัสดุปลูก นาน 45 วัน

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การนำส่วนของลำต้นอ่อน ซึ่งเป็นชิ้นส่วนที่เหมาะสำหรับการนำมาฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในสารละลายคลอรอกซ์ที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ นาน 20 นาที, สารละลายคลอรอกซ์ที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที และสารละลายคลอรอกซ์ที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 3 นาที และ ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที มากกว่าส่วนของใบ ก้านใบ ลำต้นอ่อน และผล พบว่ามีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์น้อยที่สุด ประมาณ 70-80 เปอร์เซ็นต์ การผลิต embryogenic callus ไม่ประสบความสำเร็จ อาจเนื่องจาก ชนิดของสารกระตุ้นการเกิดแคลลัสหรือความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตยังไม่เหมาะสม เนื่องจากตะไคร้ต้นเป็นไม้ยืนต้นที่พบในป่าและมีกลุ่มสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) ซึ่งอาจไปทำให้ประสิทธิภาพของของสารควบคุมการเจริญเติบโต แต่สามารถได้สูตรอาหารที่สามารถเพิ่มปริมาณต้นเนื้อเยื่อ คือ การนำส่วนลำต้นอ่อนมาเลี้ยงในอาหาร MS ที่มี BA ที่ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงนานประมาณ 2 สัปดาห์ ชิ้นพืช มีการขยายขนาดและเริ่มแตกต้นอ่อน เลี้ยงต่อ ประมาณ 1 เดือนพบว่า ได้ต้นอ่อน ประมาณ 8- 10 ต้น แต่ต้นมีลักษณะอวบน้ำ ไม่แข็งแรง จึงนำต้นอ่อน มาเลี้ยงในอาหาร MS ที่ไม่มีการเติมฮอร์โมนใดๆ นาน ประมาณ 45 วัน พบว่าได้ต้นที่สมบูรณ์ สามารถนำไปชักนำให้เกิดรากโดยนำไปเลี้ยงในอาหาร MS ที่มี IAA, IBA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตรนาน 60 วัน แต่ไม่สามารถชักนำให้เกิดรากในสภาพปลอดเชื้อได้ จึงนำต้นเนื้อเยื่อที่สมบูรณ์ มาปรับสภาพต้นโดยนำขวดเนื้อเยื่อวางในห้องที่มีสภาพอุณหภูมิปกติ ประมาณ 1 สัปดาห์ ล้างวุ้นออก ตัดเนื้อเยื่อบริเวณโคนต้นออกเล็กน้อย และนำมาจุ่มในสารกระตุ้นการเจริญของราก 4 - อินโดล - 3 บิวทิริกแอซิค 0.3% น้ำหนักโดยปริมาตร เป็นเวลา 20 นาที ชำในตะกร้าพลาสติกที่มีทรายและขุยมะพร้าว เป็นวัสดุเพาะ ต้นสามารถออกรากได้หลังการอนุบาล เป็นเวลา 45 วัน

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ที่อำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงานทดลองนี้ให้ลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

เบญจวรรณ ซื่อสัตย์. 2542. น้ำมันหอมระเหยจากพืชสมุนไพรที่ปลูกในภาคเหนือของไทย. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาการสอนเคมี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 49 หน้า.

สลี ปันยารชุน และปราณี นันทศรี. 2524. น้ำมันหอมระเหยจาก *Litsea cubeba* Pers. ในประเทศไทย. วารสารเภสัชศาสตร์ 8 (3) : หน้า 65-70.

สำนักวิชาการป่าไม้. 2531. คุณสมบัติและการใช้ประโยชน์ของน้ำมันหอมระเหยตะไคร้ต้น. กรมป่าไม้. 21 หน้า.