

การขยายพันธุ์กะเพราศักดิ์สิทธิ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

In vitro micropropagation of *Platostoma tridechii* Suddee

โดย ณัชชา วิสุทธิเทพกุล¹ เมธิณี ตาหุมาศสวัสดิ์¹ กันตินันท์ ผิวสอาด นายสุวรรณ ปณิตานะโต²

บทคัดย่อ

การศึกษาทดลองขยายพันธุ์กะเพราศักดิ์สิทธิ์ (*Platostoma tridechii* Suddee) ซึ่งเป็นพืชเฉพาะถิ่นหายากและวิกฤตใกล้สูญพันธุ์ ในสภาพปลอดเชื้อ โดยทำการเพาะเลี้ยงเมล็ดในสูตรอาหาร Murashige & Skoog (MS) (1962) ในสภาพปลอดเชื้อ นานถึง 3 เดือนแล้ว จึงตัด กิ่ง ก้าน ของต้นกะเพราศักดิ์สิทธิ์ ให้เป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ลงในขวดอาหารสูตรต่างๆ ทั้งหมด 4 สูตร ขวดละ 1 ต้น และเลี้ยงต่อไปอีก 3 เดือน ผลปรากฏว่า สูตรอาหารที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและแตกกอมากที่สุด มี คือ MS+น้ำมะพร้าว ซึ่งมีการแตกกอเฉลี่ย 22 ต้น /กอ เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองทางสถิติ กับจำนวนต้นที่เจริญบนสูตรอาหารต่างๆแล้ว ปรากฏว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

คำสำคัญ : พืชเฉพาะถิ่นหายากและวิกฤตใกล้สูญพันธุ์ , ในสภาพปลอดเชื้อ, การขยายพันธุ์

ABSTRACT

Micropropagation of CR –critically endangered species, *Platostoma tridechii* Suddee. was achieved through *in vitro* formation of multiple shoots from stem nodal that was derived from seed germination on Murashige and Skoog (MS) medium for 3 month. Explants were cultured on four types of Murashige and Skoog (MS) media supplemented with varies of growth regulators. After 3 months, the responses of explants on MS medium supplement with coconut water was the best medium to form 22 multiple shoots/stem nodal.

Results were statistical analyzed and found that there were significant difference between media and multiple shoots.

Keyword : critically endangered species, *in vitro*, micropropagation

¹ กลุ่มงานวิจัยอนุรักษ์พันธุ์กรรมไม้ป่าและเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่าและพันธุ์พืช

² หัวหน้าเขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูวัว (2554) จังหวัดหนองคาย สำนักบริหารพื้นที่ป่าอนุรักษ์ที่ 10 (อุตรธานี)

คำนำ

กะเพราศักดิ์สิทธิ์ (*Platostoma tridechii* Suddee) เป็นการตั้งชื่อเพื่อเป็นเกียรติแก่ท่านปลัดกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ดร.ศักดิ์สิทธิ์ ตรีเดช เพื่อประกาศเกียรติคุณคุณูปการที่ท่านได้ทำหน้าที่ปกป้อง ดูแลทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมของชาติอย่างเต็มกำลังความสามารถ จวบจนจบชีวิตในขณะที่กำลังปฏิบัติหน้าที่

กะเพราศักดิ์สิทธิ์ เป็นพืชล้มลุกเฉพาะถิ่นหายากและวิกฤตใกล้สูญพันธุ์ (CR –critically endangered species) พบได้เฉพาะทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน ที่เขตรักษาพันธุ์สัตว์ป่าภูวัว จังหวัดหนองคาย การค้นพบในครั้งนี้ ปรากฏว่ามีประชากรขึ้นเป็นกลุ่มขนาดเล็ก ซึ่งเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์เป็นอย่างยิ่ง สำนักวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้และพันธุ์พืช จึงได้หาวิธีการป้องกันมิให้เกิดการสูญพันธุ์ของไม้ชนิดนี้ โดยทำการศึกษาการขยายพันธุ์กะเพราศักดิ์สิทธิ์ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขึ้นในเดือน มกราคม พ.ศ. 2554 ทั้งนี้เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นวิธีการหนึ่งที่จะสามารถ



ขยายพันธุ์พืชให้มีปริมาณมากขึ้นเป็นทวีคูณได้เช่นเดียวกับการขยายพันธุ์กล้วยไม้รองเท้านารี (Arditti, 2008) แต่การขยายพันธุ์ด้วยวิธีนี้มีข้อจำกัดว่าพันธุ์ไม้แต่ละชนิดมีความต้องการสารอาหารที่แตกต่างกันและอาจจะใช้ชิ้นส่วนพืชที่ต่างกัน (Schenk และ Hildebrandt, 1972) บางชนิดใช้ตายอด และตาข้าง บางชนิดใช้ปลายราก (Robbins, 1922) เป็นต้น

วิธีการวิจัย

วิธีเพาะเลี้ยงเมล็ดในอาหารวิทยาศาสตร์ สูตร MS ในสภาพปลอดเชื้อ

1. นำเมล็ดกะเพราศักดิ์สิทธิ์ จำนวน 10 เมล็ด ทำการฟอกฆ่าเชื้อด้วยน้ำยาไฮเตอร์ 10% นาน 10 นาที
2. ล้างเมล็ดด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง
3. นำเมล็ดเพาะลงในอาหารวิทยาศาสตร์ สูตร MS ในสภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลานาน 3 เดือนจนมีจำนวนต้นมากพอสำหรับการใช้ในการทดลอง จึงทำการทดลองสูตรอาหารที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์ โดยตัด กิ่ง ก้าน ให้เป็นชิ้นเล็กๆใส่ลงในขวดอาหารชนิดต่างๆขวดละ 1 ต้น และใช้แผนการทดลองแบบ CRD ดังนี้

สูตรอาหาร	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4
MS+น้ำมะพร้าว	10 ขวด	10 ขวด	10 ขวด	10 ขวด
MS+น้ำมะพร้าว+6 ml BA	10 ขวด	10 ขวด	10 ขวด	10 ขวด
MS+น้ำมะพร้าว+6 ml NAA	10 ขวด	10 ขวด	10 ขวด	10 ขวด
MS+น้ำมะพร้าว+6 ml BA + 3 ml NAA	10 ขวด	10 ขวด	10 ขวด	10 ขวด

พร้อมทั้งเก็บข้อมูลการทดลองเป็นเวลา 3 เดือน จากนั้นจึงนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติด้วย

ผลการทดลอง

ปรากฏว่ากระเพราศักดิ์สิทธิ์สามารถเจริญเติบโตได้ในสูตรอาหารทั้ง 4 สูตร แต่มีการเจริญเติบโตและแตกกอมากที่สุดในสูตรอาหาร 2 สูตรคือ MS+น้ำมะพร้าว และ MS+น้ำมะพร้าว+6 ml BA ซึ่งมีการแตกกอเฉลี่ย 22 ต้น /กอ สำหรับสูตรอาหาร MS+น้ำมะพร้าว+6 ml NAAและ MS+น้ำมะพร้าว+6 ml BA + 3 ml NAA มีการแตกกอน้อยมาก ประมาณ 3 ต้น/กอ เมื่อเปรียบเทียบสูตรอาหาร MS+น้ำมะพร้าว กับสูตรอาหาร MS+น้ำมะพร้าว+6 ml BA + 3 ml NAA ก็พบว่ามีการแตกกอมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ความเชื่อมั่น 95 % ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1

SUMMARY

Groups	Count	Sum	Average	Variance
T1	40	887	22.175	176.3019
T2	40	885	22.125	76.0609
T3	40	133	3.325	6.686538
T4	40	141	3.525	17.38397

ANOVA

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	14025.88	3	4675.292	67.65163	4.46E-28	2.662569
Within Groups	10780.9	156	69.10833			
Total	24806.78	159				

ข้อเสนอแนะ

จากผลงานวิจัยนี้ ถ้าหากมีการต่อยอด โดยการวิเคราะห์หาสารเคมีในพืชชนิดนี้ จนสามารถค้นพบสารเคมีที่เป็นประโยชน์ทางยาได้ จะสามารถสร้างมูลค่าทางเศรษฐกิจได้ ก็จะเป็นผลต่อการขยายพันธุ์กระเพราศักดิ์สิทธิ์ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จนทำให้ประชากรของพืชชนิดนี้มีจำนวนมากขึ้นและพ้นวิกฤตการสูญพันธุ์ได้



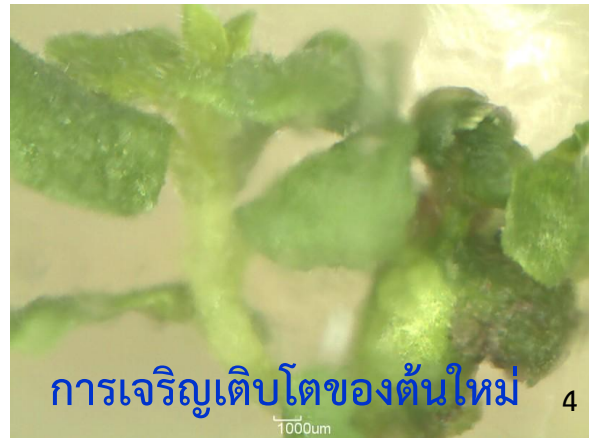
เมล็ดกระเพราศักดิ์สิทธิ์ 1



ต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ด 2



ต้นอ่อนเจริญพัฒนาเป็นต้น 3



การเจริญเติบโตของต้นใหม่ 4

เอกสารอ้างอิง

1. Arditti, J 2008. Micropropagation of orchids 2th Edition. Blackwell Publishing Ltd.
2. Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol.Plant* 15:473-497.
3. Robbins, W.J. 1922 Cultivation of excised root tips and stem tips under sterile conditions. *Bot. Gaz.* 73 : 376-390
4. Schenk และ Hildebrandt (1972) Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Can.J.Bot*,50: 199-204