

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. ชุดโครงการวิจัย :
2. โครงการวิจัย : การวิจัยและพัฒนา
กิจกรรม : เทคโนโลยีการเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนการผลิต
กิจกรรมย่อย (ถ้ามี) : การขยายพันธุ์ชา
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : ศึกษาการขยายพันธุ์ชาจีนด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) :
4. คณะผู้ดำเนินงาน
หัวหน้าการทดลอง : นางสาวนงคราญ โชติอิมอุดม ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่
ผู้ร่วมงาน : นายสุเมธ ปากเพียร ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่

ศึกษาการขยายพันธุ์ชาจีนด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

นงคราญ โชติอิมุดม สุเมธ พากเพียร

บทคัดย่อ

การศึกษาการขยายพันธุ์ชาจีนด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อให้ทราบถึงวิธีการและการเจริญเติบโตของต้นชาจีนด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อขยายพันธุ์ให้ได้ต้นพันธุ์ขนาดเล็กจำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น พบว่าการเพาะเนื้อเยื่อบริเวณยอดชาจีนในอาหารเพาะเลี้ยงทุกกรรมวิธี มีการเจริญเติบโตค่อนข้างช้า กรรมวิธีที่ 2 อาหาร MS เพิ่ม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนข้อสูงสุดเท่ากับ 4 ข้อ ความสูงมากที่สุดเท่ากับ 5.3 เซนติเมตร เนื่องจากเนื้อเยื่อชาจีนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารต่างๆ ไม่เกิดราก จึงทำให้ไม่สามารถนำมาปลูกเพื่อทดสอบในสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติได้

Study of tea (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) propagation by tissue culture

Nongkran Chotimudom Sumate Phakphian

Abstract

The study of tea propagation by tissue culture had proposed to find method and growth of tea (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) by tissue culture for increase plantlet in shorten. The growth of Chinese tea Culture all treatment is relatively slow. Experiment was found the growth of Chinese tea culture very slow growth. The treatments 2 MS + BA 0.1 mg / liter and IBA 0.5 mg / liter was maximum number of node and highest , 4 node and 5.3 centimeter respectively. Tissue cultured of Chinese tea in media is not rooted so it cannot be grown for testing in the natural environment.

คำนำ

ปัจจุบันการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับชาจีนยังมีน้อยเมื่อเทียบกับงานวิจัยพืชอื่นๆ การวิจัยเพื่อพัฒนาเทคโนโลยีให้เหมาะสมสำหรับชาแต่ละกลุ่มพันธุ์จัดได้ว่าเป็นเรื่องที่ยังเป็นอยู่อย่างยิ่ง โดยเฉพาะเทคนิคการขยายพันธุ์ให้ได้ต้นกล้าที่มีปริมาณเพียงพอต่อความต้องการของเกษตรกร การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อชาจีน ก็เป็นวิธีการขยายพันธุ์วิธีใหม่ที่ยังไม่เคยมีการศึกษามาก่อน ซึ่งสามารถขยายพันธุ์พืชให้มีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนเดิมและได้ปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในระยะเวลาอันสั้น จึงจำเป็นต้องทำการวิจัยเพื่อให้ทราบถึงวิธีการและความสามารถในการเจริญเติบโตของชาจีนด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อรองรับเทคโนโลยีการผลิตต้นพันธุ์ชาจีนที่อาจเกิดขึ้นในอนาคต (สมพล,2533) และหากประสบผลสำเร็จก็จะเป็นการขยายพันธุ์วิธีใหม่ที่สามารนำมาเพิ่มปริมาณต้นชาจีนเพื่อเผยแพร่สู่เกษตรกรต่อไป

วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

ต้นพันธุ์ชาจีน แม่จอนหลวง เบอร์ 3, ปุ๋ยเคมีสูตร 46-0-0, สารเคมีในสูตรอาหาร MS ,สารเร่งการเจริญเติบโต BA และ NAA

- วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCBD 4 กรรมวิธีๆละ 10 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 อาหารสูตร MS

กรรมวิธีที่ 2 อาหารสูตร MS + BA 0.1 มิลลิกรัม + IBA 0.5 มิลลิกรัม

กรรมวิธีที่ 3 อาหารสูตร MS + BA 0.5 มิลลิกรัม +NAA 1 มิลลิกรัม+ IBA 1 มิลลิกรัม

กรรมวิธีที่ 4 อาหารสูตร MS + BA 1.0 มิลลิกรัม +NAA 1 มิลลิกรัม+ IBA 2 มิลลิกรัม

ขั้นตอนการปฏิบัติงานทดลอง

1. เตรียมยอดชาที่จะนำขึ้นส่วนเนื้อเยื่อบริเวณยอดมาเพาะเลี้ยง ด้วยการฉีดพ่นสารกำจัดเชื้อรา คาร์เบนดาซิม บนยอดชา อัตราส่วน 3 กรัม ต่อน้ำกลั่น 100 ซีซี ทุกๆสองวัน ประมาณ 1สัปดาห์ ก่อนตัดยอดมาทำการเพาะเลี้ยง
2. ฟอกล้างด้วยน้ำยา Clorox ผสม Tween 20 ประมาณ 2-3 หยด ที่ความเข้มข้น 20% และ 10% เป็นเวลา 10 นาที และ 20 นาที ตามลำดับ แล้วจุ่มด้วยแอลกอฮอล์ 95 % ประมาณ 30 วินาที จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ครั้งละ 3 นาที
3. ตัดยอดและข้อ เพาะเลี้ยงในอาหาร MS เป็นเวลา 1 อาทิตย์ เมื่อไม่พบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ในเนื้อเยื่อและอาหาร ย้ายขึ้นส่วนเนื้อเยื่อลงในอาหารตามกรรมวิธี ที่เตรียมไว้เพื่อชักนำให้เกิดยอดและราก

การบันทึกข้อมูล

1. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของขึ้นส่วนของชาที่ใช้ขยายพันธุ์แต่ละกรรมวิธี
2. วิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง

ผลการทดลองและวิจารณ์

นำเนื้อเยื่อบริเวณยอดของต้นชาจีน แม่จอนหลวงเบอร์ 3 (ภาพที่ 1) มาทำฟอกล้างทำความสะอาดและตัดขึ้นส่วนเนื้อเยื่อ (ภาพที่ 2) เพาะในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรต่างๆ (ภาพที่ 3) หลังจากเพาะเลี้ยง 2 สัปดาห์เริ่มแตกยอดใหม่ บริเวณตาข้าง (ภาพที่ 4) หลังจากฟอกล้างและเพาะเลี้ยงยอดชาในอาหารสูตร MS 1 สัปดาห์ (ภาพที่ 5) ในสภาพปลอดเชื้อมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ ประมาณ 50 % และเพิ่มปริมาณการปนเปื้อนเป็น 70 % ในเดือนที่ 3 (ภาพที่ 6) จึงทำให้มีจำนวนยอดชาที่จะนำมาทำการทดลองต่อไปลดลงและไม่เพียงพอตามกรรมวิธีที่กำหนดไว้ ผู้วิจัยจึงเพิ่มความเข้มข้นของสารฟอกล้าง จาก 15% เป็น 20% และเพิ่มเวลาจาก 10 นาที เป็น 15 นาที ในการฟอกล้างเพื่อลดปริมาณการปนเปื้อนของเชื้อรา แต่ยังคงพบการปนเปื้อนของเชื้อราเกิดขึ้นในขวดอาหารทุกครั้งที่ทำฟอกล้างเพื่อขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

หลังจากเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยอดชาเป็นเวลา 2 เดือน ทำการย้ายเนื้อเยื่อลงในอาหารขวดใหม่ เมื่ออายุ 4 เดือนมีการเจริญเติบโตในส่วนของยอดแต่ยังไม่มีการพัฒนาในส่วนของรากในทุกกรรมวิธี และพบว่ายอดชาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเริ่มแห้ง ใบร่วง จึงต้องนำยอดชามาเพาะเลี้ยงใหม่

ทดลองทำการเพาะเลี้ยงปลายยอดชาจีน ซึ่งเป็นเทคนิคในการเพาะเลี้ยงมันฝรั่งปลอดโรค เพื่อลดการปนเปื้อนของแบคทีเรียต่างๆ โดยตัดยอดชาผ่านกล้องสเตอริโอไมโครสโคป (ภาคผนวก) เมื่อได้ปลายยอดชาแล้วจึงนำไปเพาะในขวดอาหารทั้ง 4 สูตร หลังจากเพาะเลี้ยงพบการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย จำนวน 30 % ปลาย

ยอดขามีขนาดใหญ่ขึ้นจากเดิม แต่ยังมีขนาดเล็กมาก เนื่องจากการเจริญเติบโตของชาจีนในอาหารเพาะเลี้ยงค่อนข้างช้า เช่นเดียวกับการเจริญเติบโตในธรรมชาติเนื่องจากเป็นพืชยืนต้น

ตารางที่ 1 การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อที่นำมาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารตามกรรมวิธีต่างๆ เป็นเวลา 4 เดือน

กรรมวิธี	จำนวนยอด	จำนวนใบ	จำนวนข้อ	ความสูง	จำนวนราก
1. MS	1	3	2.5	3.5	0
2. MS + BA 0.1 มก./ล. + IBA 0.5 มก./ล.	1	4	4	5.3	0
3. MS + BA 0.5 มก./ล. +NAA 1 มก./ ล.+ IBA 1 มก./ ล.	1	4	3	4	0
4. MS + BA 1.0 มก./ล. +NAA 1 มก./ ล.+ IBA 2 มก./ ล.	1	4	3	4.5	0

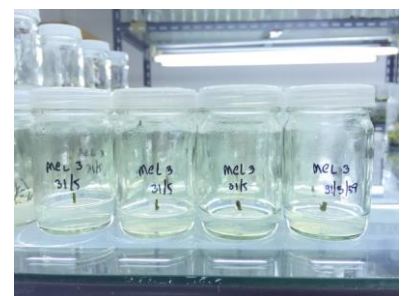
รูปภาพแสดงขั้นตอนการดำเนินงาน



1) ต้นชาจีน พันธุ์ MCL3



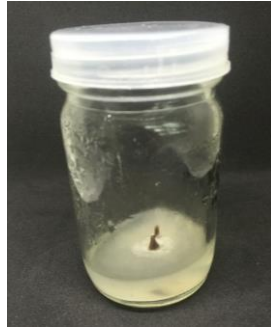
2) การตัดเนื้อเยื่อ



3) หลังจากเพาะเลี้ยง 1 สัปดาห์



4) การแตกยอดใหม่หลังจากเพาะเลี้ยง 2 สัปดาห์

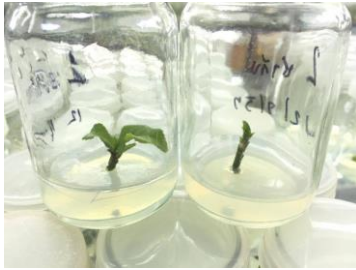


5) การปนเปื้อนของเชื้อรา หลังจากเพาะเลี้ยง 1 สัปดาห์



6) การปนเปื้อนของเชื้อรา หลังจากเพาะเลี้ยง 3 เดือน

การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อชาจิ้นหลังจากเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารตามกรรมวิธี นาน 4 เดือน



7) กรรมวิธีที่ 1



8) กรรมวิธีที่ 2



9) กรรมวิธีที่ 3



10) กรรมวิธีที่ 4

- เวลาและสถานที่

เริ่มต้น ปี 2559 สิ้นสุด ปี 2560 ณ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อชาจิ้นในอาหารเพาะเลี้ยงทุกกรรมวิธีค่อนข้างช้า ในกรรมวิธีที่ 2 อาหาร MS เพิ่ม BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนข้อสูงสุดเท่ากับ 4 ข้อ ความสูงมากที่สุด

เท่ากับ 5.3 เซนติเมตร แต่เนื่องจากเนื้อเยื่อชาจีนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสูตรอาหารต่างๆ ไม่เกิดราก จึงทำให้ไม่สามารถนำมาปลูกเพื่อทดสอบในสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติได้

เนื่องจากการทดลองมีระยะเวลาจำกัด อีกทั้งมีช่วงเวลาพักตัวของต้นชาจีนในธรรมชาติ ต้นชาไม่แตกยอดใหม่ในช่วงฤดูหนาว และมีการเจริญเติบโตช้าในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรต่างๆ หากมีการทดลองเกี่ยวกับชาจีนในอนาคต ควรมีเวลาในการทดลองมากกว่า 2 ปี เพื่อให้ได้ผลการทดลองที่มากขึ้น

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

นักวิจัยสามารถนำสูตรอาหารจากการทดลองนี้ไปพัฒนาเพื่อให้ได้ต้นชาที่มีราก ได้ต้นชาที่สมบูรณ์ให้สามารถขยายพันธุ์ในอาหารเพาะเลี้ยงจนนำมาต้นชาออกปลูกในสภาพแวดล้อม และเผยแพร่สู่เกษตรกรต่อไปได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณนักวิชาการเกษตรและเจ้าหน้าที่ประจำห้องทดลอง ณ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ ทุกท่าน ที่มีส่วนร่วมในงานวิจัยและช่วยให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

สมพล นิลเวศน์ และ Shimonkado Hisachi, 2533, รายงานผลการฝึกอบรม หลักสูตร Tea Cultivation, Quality and Chemical Analysis on Tea เสนอ Tea Research Institute.(in Japanese), Kumamoto Prefecture(ไม่ได้ตีพิมพ์) 39 pp.

ภาคผนวก



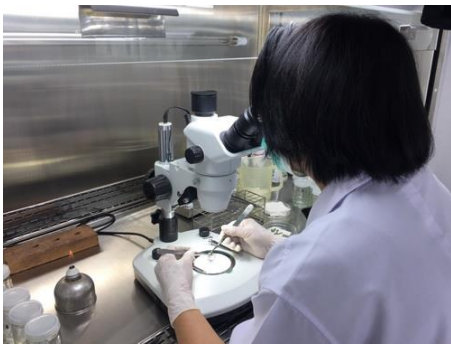
ต้นชาพัทลุงในฤดูหนาว



ยอดชาหลังการตัดแต่งกิ่ง



ยอดชาที่นำมาเพาะเลี้ยง



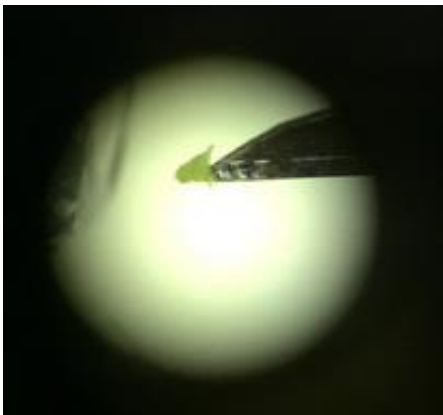
ตัดปลายยอดชาผ่านกล้อง



ยอดชา



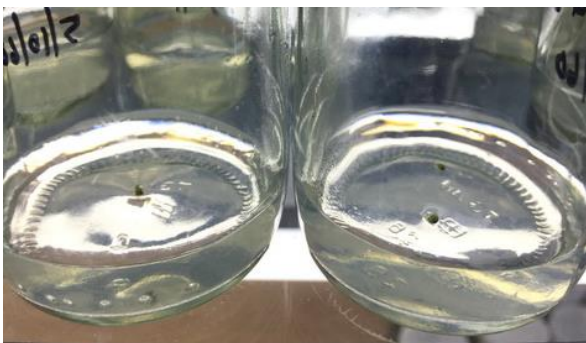
ปลายยอดชาที่จะตัด



ปลายยอดชาที่ตัดมาเพาะเลี้ยง



ตัดปลายยอดชามาเพาะในอาหาร



ลักษณะของปลายยอดชาจีนหลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารนาน 1 เดือน

