

บทคัดย่อ

การผลิตขยายต้นพันธุ์อ้อยปลอดโรคโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จากท่อนพันธุ์อ้อยที่ผ่านการตรวจว่าปลอดเชื้อไฟโตพลาสมาสาเหตุโรคใบขาวด้วยเทคนิค nested PCR แล้ว 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ขอนแก่น 3 และ LK 92-11 ผลจากการเพาะเลี้ยงใบอ่อนขนาด 0.5 ซม. ปลายยอดขนาดสูง 0.2-0.3 ซม. และเนื้อเยื่อเจริญขนาด 0.5-0.7 มม. ในอาหารสูตรทดลอง คือ อาหารแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D 1 มก./ล. และ น้ำมะพร้าว 10% (โดยปริมาตร) พบว่าหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 เดือน แคลลัสขยายขนาดเพิ่มขึ้นและเกาะกันเป็นก้อนมีสีเหลืองอมขาวและเกิดจุดกำเนิดยอดสีเขียวจำนวนมาก ขนาดประมาณ 1.50 ซม. 1 ซม. และ 0.5 ซม. ตามลำดับ ผลการตรวจตัวอย่างแคลลัสด้วยเทคนิค nested PCR ที่สุ่มจากอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 จำนวน 40 ตัวอย่าง และ LK92-11 จำนวน 35 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบเชื้อไฟโตพลาสมาในทุกตัวอย่าง ทำการย้ายกระจุกลงอาหารแข็งที่มีอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ จากนั้นจึงนำไปเพิ่มปริมาณในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อครบ 4 สัปดาห์จะตัดถ่ายจนกระทั่งได้ครบตามที่กำหนด จากนั้นจึงย้ายลงอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้ออกรากเป็นเวลา 3 สัปดาห์ และนำออกปลูกในเรือนโรงควบคุมอุณหภูมิ โดยนำเลี้ยงในภาตหลุมขนาด 200 หลุมต่อภาตเป็นเวลานาน 2 เดือน นำออกปลูกในแปลงพันธุ์หลัก ในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตเมื่ออ้อยอายุ 6 เดือน พบว่าอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 และพันธุ์ LK92-11 มีจำนวนหน่อต่อกอ 7.8 และ 5.7 หน่อ ตามลำดับ มีจำนวนตาต่อลำ และความยาวลำ เมื่ออ้อยอายุ 8 เดือน เป็น 18 และ 16 ตาต่อลำ และ 178 และ 194 เซนติเมตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตต่อไร่พบว่าพันธุ์ LK92-11 มีผลผลิต 22 ตันต่อไร่ พันธุ์ขอนแก่น 3 มีผลผลิต 18.7 ตันต่อไร่ ผลการเข้าข้ออ้อยอายุ 8 เดือน จากแปลงพันธุ์หลัก และเพาะเลี้ยงในโรงเรือนกันแมลง จำนวน 350,000 ต้น พบว่าพันธุ์ขอนแก่น 3 และ LK92-11 มีความงอก 92.32 และ 85.42 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และตรวจไม่พบเชื้อไฟโตพลาสมาจากสุ่มตรวจต้นกล้าจำนวน 0.1% ของต้นกล้าทั้งหมดหลังจากเพาะเลี้ยงไว้ 1.5 เดือน ทางโครงการได้ส่งมอบต้นกล้าอ้อยปลอดโรคใบขาวให้แก่เกษตรกรเครือข่ายโรงงานน้ำตาลราชบุรีจำนวน 15 ราย มีพิกัดแปลงอยู่ในจังหวัดราชบุรี กาญจนบุรี และนครปฐม รวมพื้นที่ 105 ไร่

คำสำคัญ: อ้อย, โรคใบขาว, เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, ไบโอรีแอคเตอร์, เทคนิคแลมป์

ABSTRACT

Sugarcane plants of the two commercially grown varieties namely Khon Khen 3 and LK92-11 were produced free from sugarcane white leaf phytoplasma by the tissue culture. Young leaves, 0.5 cm., shoot tips, 0.2-0.3 cm., apical meristem, 0.5-0.7 mm. in size, were cultured on Murashige and Skoog medium (MS) supplemented with 1 mg/L 2,4-D and 10% (v/v) coconut water. Yellowish-white callus developed within 2 months, 1.50 cm., 1 cm. and 0.5 cm., in size respectively. Such callus structures developed green pin-head-sizes structures scattered among the mass of calli. Detection of sugarcane white leaf phytoplasma in 40 calli of Khon Khen 3 and 35 calli of LK92-11 by nested PCR showed negative result suggesting that they were phytoplasma free. The shoot clusters were transferred to MS medium without growth hormone for 2 weeks and subcultured into temporary immersion bioreactor (TIB) in MS medium supplemented with 1 mg/L. BA for 4 weeks and transferred to rooting medium supplemented with 1 mg/L. NAA. After 3 weeks, root plantlets were placed individually in 200 cell plug trays and maintained in greenhouse for 2 months and transplanted in foundation field at Kasetsart University, Kamphaengsaen Campus for 8 months. At six months after planting showed the number of tillers of variety Khonken 3 and LK92-11 were 7.8 and 5.7 respectively. Comparison of variety Khonken 3 and LK92-11 at an age of 8 months showed that the number of buds per stalk, stalk length and cane yield were 18 and 16 buds per stalk, 178 and 194 cm., 18.7 and 22 ton per rai respectively. About 350,000 seedlings are raised in a greenhouse using single bud setts obtained from foundation field. Germination of variety Khonken 3 and LK92-11 were 92.32 and 85.42% respectively. Detection of sugarcane white leaf phytoplasma in 0.1% of seedlings showed negative result. When the seedlings are of about 6 week old, they were transplanted in the certified fields of 15 Ratburi Sugar Co, Ltd 's farmers. The 105 rai of certified fields are located in the Ratchaburi, Kanchanaburi and Nakhon Pathom.

Keywords: sugarcane, white leaf disease, tissue culture, bioreactor, LAMP technique