บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับสบู่เลือดเถาว์ (*Jatrophla gossypifolia* Linn.)

ว่านสบู่เลือดเถาว์ เป็นพืชในวงศ์บอระเพ็ด MENISPERMACEAE มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Jatropha gossypifolia* Linn.(สมสุข,2534) ว่านสบู่เลือดเถาว์มีอยู่ 2 ชนิดคือ ตัวผู้กับตัวเมีย ชนิดตัวเมียมีลักษณะหัวกลมเหมือนหัวบัวบก ต้นเป็นเถาว์สีเขียวอมแดงเรื่อๆ ใบคล้ายใบตำลึงแต่สั้นกว่า หลังใบมีสีแดง เมื่อเด็ดก้านขาดจะมียางสีส้มอ่อนๆ (แสวง,มปป.) ส่วนที่ใช้เป็นยา คือ หัว ก้าน ดอก ใบ และเถาว์ สรรพคุณของสบู่เลือด เภสัชกรหญิงสุนทรี สิงหบุตร อธิบายไว้ในหนังสือสรรพคุณสมุนไพรไทย200 ชนิดว่า ต้นมีสรรพคุณกระจายลมที่แน่นหน้าอก ใบใช้บำรุงธาตุไฟ ใส่บาดแผลสดเรื้อรัง ดอกใช้ฆ่าเชื้อโรคเรื้อน ทำให้อุจจาระละเอียด เถาว์ใช้ขับโลหิตระดู ขับพยาธิในลำไส้ หัว ก้าน ใช้ขับเสมหะเบื้องต้น ทำให้เกิดกำลังและบำรุงกำหนัด ส่วนรากใช้บำรุงเส้นประสาท วิธีใช้ หัวกับก้านรับประทานกับสุรา ทำให้ผิวหนังเกิดอาการชา อยู่ยงคงกระพัน ถูกเมี่ยนตีไม่เจ็บไม่แตก ผู้ที่ดื่มสุรา นิยมใช้หัวว่านดองกับสุรารับประทาน หัวหั่นเป็นชิ้นบาง ๆ สัก 3 ชิ้น ตำโขลกกับน้ำซาวข้าวหรือสุรา ตำให้ละเอียดแล้วคั้นเอาแต่น้ำดื่ม ประมาณ 1 ถ้วยชา เช้า เย็น และ ก่อนนอน แก้ตกเลือดของสตรี และมุตกิตระดูขาวหรือตกขาวได้อย่างดี (หนังสือพิมพ์เดลินิวส์,2542)

การขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การขยายพันธุ์พืชโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถนำอวัยวะของพืชมาขยายพันธุ์ได้แทบทุกส่วน เช่น ราก ลำต้น ตาข้าง ตายอด หัว เป็นต้น แต่การนำอวัยวะของพืชมาขยายพันธุ์ได้ต้องอาศัยปัจจัยหลายอย่างได้แก่ อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม และสมดุลกันของออกซินกับไซโตไคนิน ซึ่งพืชแต่ละชนิดต้องการระดับความเข้มข้นของสารแตกต่างกัน สำหรับสบู่เลือดเถาว์ ยังไม่พบรายงานว่ามีผู้นำมาขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเกิดต้นรวม

สารควบคุมการเจริญเติบโตทั้งที่เป็นฮอร์โมนที่พืชสังเคราะห์ขึ้นในธรรมชาติเช่น IAA และสารสังเคราะห์ มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโต สารแต่ละชนิดมีผลต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาแตกต่างกันออกไปในพืชแต่ละชนิด ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดและความเข้มข้นของสาร มีรายงานมากมายเกี่ยวกับการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในการชักนำให้เกิด แคลลัส การเกิดยอด และ ราก โดยเฉพาะสารในกลุ่มออกซินและไซโตไคนิน

ออกซิน

สารในกลุ่มออกซินมีทั้งที่พืชสร้างขึ้นเองและสารสังเคราะห์ มีคุณสมบัติเป็นสารเร่งการเจริญเติบโต มีผลกระตุ้นการขยายขนาดของเซลล์ และการยืดตัวของเซลล์ และมีผลกระตุ้นการเกิดราก สารออกซินชนิดแรกที่พบคือ IAA ซึ่งเป็นสารที่พืชสร้างขึ้นและมีการสังเคราะห์สารที่ทำหน้าที่คล้ายออกซินเช่น NAA IBA และ 2,4-D แหล่งสร้างออกซินอยู่บริเวณตายอด และบริเวณอื่น ๆ ที่มีเนื้อเยื่อเจริญเป็นแหล่งสร้างออกซินเช่นเดียวกัน ได้แก่ปลายราก ตา เมล็ด และแคมเบียม(พีรเดช,2537)

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช มีการใช้ออกซิน ชักนำให้เกิดแคลลัส โดยความเข้มข้นที่ใช้ขึ้นกับชนิดของพืช และมีการใช้ออกซินร่วมกับไซโตไคนินเพื่อกระตุ้นการให้เกิดยอด ราก หรืออวัยวะอื่นๆ โดยการรวมตัวของกลุ่มเซลล์ (Zaessและ Mapes,1962) ยกเว้นเนื้อเยื่อแคมเบียมซึ่งเกิดแคลลัสได้โดยไม่ต้องการออกซินจากภายนอก(Minocha,1987)

นอกจากนี้ออกซินยังมีบทบาทในการชักนำให้เกิดรากในสภาพปลอดเชื้อด้วยการให้ออกซินจากภายนอก สามารถทดแทนออกซินที่สร้างจากใบอ่อนและตาที่กำลังเจริญเติบโตในการชักนำให้เกิดรากได้ IBA และ NAA มีประสิทธิภาพสูงกว่า IAA และ 2,4-D ในการส่งเสริมให้เกิดราก แต่การได้รับออกซินความเข้มข้นสูงเป็นเวลานานจะยับยั้งการเจริญเติบโตของราก (Gasper และ Coumans,1987)

ไซโตไคนิน

สารกลุ่มนี้กระตุ้นการเกิดเจริญเติบโตของพืช ส่งเสริมการแบ่งเซลล์ การขยายขนาดของเซลล์ กระตุ้นการเกิดยอดแต่ยับยั้งการเกิดราก ไซโตไคนินส่งเสริมการแตกตาข้าง โดยมีผลลบล้างผลของออกซินที่เกี่ยวข้องกับ apical dominance การใช้ไซโตไคนินร่วมกับออกซินจะชักนำให้เกิดแคลลัส ไซโตไคนินถูกสร้างที่บริเวณปลายราก แล้วเคลื่อนย้ายไปยังใบและส่วนต่าง ๆ ของพืชทางท่อน้ำ

สารในกลุ่มไซโตไคนินที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีทั้งสารที่พืชสร้างขึ้นในธรรมชาติเช่น zeatin และสารสังเคราะห์ เช่น BA และ kinetin ซึ่ง BA เป็นสารที่ใช้มากที่สุดในการกระตุ้นให้เกิดยอดจำนวนมาก เนื่องจากมีประสิทธิภาพดีกว่าและมีราคาถูก Wangและ Charles(1991) กล่าวว่า รากเป็นแหล่งสังเคราะห์ไซโตไคนิน ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญส่วนใหญ่จึงมีการเติมไซโตไคนินลงในอาหาร เพื่อกระตุ้นให้เกิดยอด และในพืชบางชนิดสามารถเกิดรากได้เอง ดังนั้น รากที่เกิดขึ้นจึงเป็นแหล่งสร้างไซโตไคนินสำหรับการเจริญเติบโต และสารในกลุ่มไซโตไคนินที่ใช้กันบ่อยคือ BA kinetin และ 2iP โดย BA มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการเลี้ยงปลายยอด (shoot meristem) รองลงมาคือ kinetin ส่วน 2iP มีการใช้น้อย

การทำงานร่วมกันระหว่างออกซินและไซโตไคนิน

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมักใช้ออกซินร่วมกับไซโตไคนิน เพื่อชักนำให้เกิดแคลลัสและเพิ่มปริมาณแคลลัส (Minocha,1987) Skoog และ Miller (1957) ได้อธิบายว่า การเกิดต้น ราก หรือแคลลัส ของพืชแต่ละชนิดขึ้นกับปริมาณสมดุลของสารออกซินและไซโตไคนินในอาหาร หากอัตราส่วนของออกซินและไซโตไคนินมีอยู่ในอัตราที่เหมาะสม เนื้อเยื่อจะเจริญเป็นต้นและรากได้อย่างสมบูรณ์ หากอัตราส่วนของออกซินและไซโตไคนินสูงกว่าอัตราส่วนที่สมดุลเนื้อเยื่อจะเจริญเป็นก้อนแคลลัสและราก และถ้าอัตราส่วนของออกซินและไซโตไคนินต่ำกว่าอัตราส่วนที่สมดุลเนื้อเยื่อจะเจริญเป็นยอดมาก

สมปอง (2541) กล่าวว่า การชักนำยอดรวมจะประสบผลสำเร็จแตกต่างกันไป ทั้งนี้ ขึ้นอยู่กับพันธุ์ และ สารควบคุมการเจริญเติบโต ที่นำมาใช้ในการชักนำ

การสร้างยอดรวมเพื่อขยายพันธุ์ในหลอดทดลอง ซึ่งจำเป็นต้องเปลี่ยนสมดุลของออกซินให้ต่ำและไซโตไคนินให้สูง เพื่อชักนำให้ตายอดแตกยอดแขนงจำนวนมากแทนการเกิดยอดหนึ่งยอดและรากหนึ่งราก มีพืชหลายชนิดที่เป็นพืชไม้เนื้ออ่อน ได้มีผู้นำมาขยายพันธุ์และใช้ระดับความเข้มข้นของออกซินกับไซโตไคนินแตกต่างกัน Barlass และ Skene(1980) เพาะเลี้ยงปลายยอดองุ่นในอาหารเหลวสูตร MS (Murashige and Skoog,1962) ที่มี BA 10 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 14วัน จึงย้ายลงเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรเดิมประมาณ 1 เดือน เกิดยอดขึ้นจำนวนมาก อภิรัตน์(2536) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเครือหมาน้อย ในสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่มีฮอร์โมนผสมของ 2,4-D และ kinetin ในระดับต่างๆ พบว่า สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ ในลักษณะที่เรียกว่า Soft callus ซึ่งเป็นตุ่มใสๆ สีน้ำตาล และไม่สามารถเพิ่มปริมาณได้ เมื่อทดลองต่อไปพบเพียงว่าแคลลัสสามารถเพิ่มปริมาณได้ดีในอาหาร MS และ ½ MS ที่มี 2,4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 1.0-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่จนกระทั่งการทดลองสิ้นสุดก็ไม่ปรากฏการเจริญเติบโตของแคลลัสเป็นยอด ไม่ว่าจะเป็นอาหารสูตรใดๆที่ทำการทดลอง

อิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเกิดรากของพืช

การเกิดรากของพืชขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน ที่นิยมนำมาใช้ได้แก่ IAA IBA และ NAA สาร IAA สลายตัวได้เร็วมีประสิทธิภาพต่ำ IBA สลายตัวช้ากว่า IAA และมีประสิทธิภาพดีกว่า IAA แต่มีประสิทธิภาพต่ำกว่า NAA การเคลื่อนย้าย IBA ในพืชจะช้ากว่าNAA NAA แสดงผลของออกซินสูงกว่า IBA ดังนั้นจึงมีโอกาสเป็นพิษต่อพืชได้ (Ginfagna,1987)ในการชักนำให้เนื้อเยื่อพืชพัฒนาไปเป็นรากต้องขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ว่าควรใช้ออกซินชนิดใดและมีความเข้มข้นเท่าใดจึงพอเหมาะ มีการศึกษานำส่วนยอดของบุกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.0 0.25 0.5 1.0 2.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าIBA ที่ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 30 วัน(ยุพาและคณะ,2543)

การศึกษาการนำยอดมันเทศรหัส 94001.8 และ 94065.4 ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาชักนำให้เกิดรากบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้นต่าง ๆ นาน 30 วันพบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดรากมันเทศคือ IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร รหัส 94001.8 พบว่าต้นและรากมีขนาด 3.1 และ 26.5 เซนติเมตร ตามลำดับ มีจำนวนรากเฉลี่ย 7.3 ราก และสำหรับมันเทศรหัส 94065.4 มีจำนวนรากเฉลี่ย12.0 รากต่อยอด รากยาว 22.0 เซนติเมตรและต้นที่ได้มีความสูงเฉลี่ยสูงสุด 4.5 เซนติเมตร (พัชราวดีและคณะ,2543)

วิไลลักษณ์ (2524) นำตายอดแกลดิโอลัสที่เกิดจากปลายยอดและตาข้างมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรเกิดรากจำนวนมาก

Fonnesbech และ Fonnesbech (1980)ทำการเพาะเลี้ยงปลายยอดและส่วนตาข้างของ *Monstera deliciosa* Liebm. โดยใช้สูตรอาหาร MS ที่เติม IAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตรสามารถชักนำให้ปลายยอดและตาข้างเกิดรากจำนวนมาก