ผลของไซโตไคนินและออกซินต่อการเจริญและพัฒนาของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรด

ปิยะวดี เจริญวัฒนะ[1*]

บทคัดย่อ

สับปะรด (*Ananus comosus* cv. Patavia) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ซึ่งผลผลิตส่วนถูกส่งเข้าโรงงานอุตสาหกรรมเพื่อผลิตสับปะรดกระป๋อง น้ำสับปะรดเข้มข้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินและออกซินต่อการเพาะเลี้ยงสับปะรดในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 4 ซ้ำ และวิเคราะห์ผลการทดลองด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 จากการทดลองพบว่าสามารถชักนำให้เกิดต้นใหม่ได้จำนวนต้นสูงสุดในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 4.25 ต้น ในสัปดาห์ที่ 10 และเกิดการพัฒนาเป็นแคลลัสเฉพาะสูตรที่เติม BAP 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระยะต่อมา สำหรับอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำราก คืออาหารสูตร MS ที่เติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีรากเกิดขึ้น จำนวน 16 ราก เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์

คำสำคัญ : สับปะรด ไซโตไคนิน ออกซิน การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

[1] *ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี*

* *ผู้นิพนธ์หลัก e-mail: piyavadee_c@rmutt.ac.th*

THE EFFECTS OF CYTOKININ AND AUXIN ON GROWTH AND DEVELOPMENT OF PINEAPPLE TISSUE CULTURE

Piyavadee Charoenwattana[1*]

Abstract

Pineapple (*Ananus comosus* cv. Patavia) is an important economic crop in Thailand, which the mainly products were sent to manufacture for canned pineapple and pineapple juice concentrate. The effects of plant growth regulators cytokinin and auxin on growth of pineapple in sterile conditions were studied and the experiments were carried out in a Completely Randomized Design (CRD) with four replications. An Analysis of variance (ANOVA) was calculated and means were compared using Least Significant Difference (LSD) at the 0.05 level. The results found that, shoot induction, the young shoots cultured on medium with 1 mg l^{-1} BAP gave the maximum number of shoots at 4.25 shoots after 10 weeks culture. The callus were produced when cultured on MS medium with 1, 2 and 3 mg l^{-1} BAP in the following stage. It was found that root induction cultured for 10 weeks on MS medium with 2 mg l^{-1} NAA gave the highest number of roots at 16 roots.

Keywords : pineapple, cytokinin, auxin, plant tissue culture

[1] *Assistant Professor, Crop Production Division, Faculty of Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathumthani*

* *Corresponding author, e-mail: piyavadee_c@rmutt.ac.th*

บทนำ

สับปะรดเป็นพืชที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อน มีแหล่งกำเนิดอยู่ในทวีปอเมริกาใต้ สำหรับประเทศไทยมีการปลูกสับปะรดกระจายอยู่ทั่วไปแต่มีปริมาณไม่มากนัก การผลิตเพื่อแปรรูปในอุตสาหกรรมแปรรูปสับปะรดกระป๋องเริ่มต้นเมื่อประมาณ พ.ศ. 2510 และขยายเพิ่มขึ้น จนในปัจจุบันประเทศไทยผลิตสับปะรดได้มากเป็นลำดับต้นๆ ของโลก (ภาควิชาพืชไร่นา, 2555) สภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศของประเทศไทยเหมาะต่อการปลูกสับปะรดสามารถปลูกได้ทุกภูมิภาคของประเทศ แต่แหล่งเพาะปลูกสำคัญอยู่ที่ภาคตะวันตกและตะวันออกของประเทศ โดยเฉพาะจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ซึ่งผลิตสับปะรดได้มากถึงร้อยละ 37 ของปริมาณผลผลิตทั้งประเทศ รองลงมา ได้แก่ ระยอง ชลบุรี เพชรบุรี และราชบุรี เนื่องจากพื้นที่เหล่านี้ใกล้โรงงานแปรรูปสับปะรดกระป๋อง ปัจจุบันประเทศไทยมีเนื้อที่เก็บเกี่ยวสับปะรด 646 พันไร่ ซึ่งให้ผลผลิตสับปะรดสด 2.59 ล้านตัน และปริมาณผลผลิตต่อไร่เฉลี่ย 4.01 ตัน ในระยะ 5 ปีที่ผ่านมา พบว่าเนื้อที่เก็บเกี่ยวและปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้น กล่าวคือ เนื้อที่เก็บเกี่ยวสับปะรดเพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 1.85 ต่อปี ขณะที่ปริมาณผลผลิตสับปะรดสด และปริมาณผลผลิตต่อไร่ เพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 4.37 ต่อปี และร้อยละ 2.47 ต่อปี โดยเฉพาะปี พ.ศ. 2554 ที่ผ่านมา อัตราการขยายตัวของเนื้อที่เก็บเกี่ยวและปริมาณผลผลิตขยายตัวสูงถึงร้อยละ 10.8 และร้อยละ 31.9 จากปีก่อนหน้า ทั้งนี้ เนื่องจากราคาสับปะรดสดที่เกษตรกรขายให้โรงงานในปี พ.ศ. 2552-2553 สูงถึง 5-6 บาทต่อกิโลกรัม จึงเป็นแรงจูงใจให้มีการขยายพื้นที่ปลูกสับปะรดมากขึ้น ขณะที่ปริมาณผลผลิตต่อไร่ก็เพิ่มขึ้นเช่นกันร้อยละ 19.1 เนื่องจากปริมาณน้ำฝนและสภาพอากาศที่เอื้ออำนวย โดยปกติปริมาณผลสับปะรดสดจะออกสู่ตลาดมากในช่วงเดือนเมษายน-มิถุนายน และพฤศจิกายน-ธันวาคม ในปี พ.ศ. 2555 กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ คาดว่าปริมาณผลผลิตสับปะรดโรงงานจะเพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 3.1 เป็น 2.67 ล้านตัน เนื่องจากเกษตรกรขยายพื้นที่เพาะปลูกต่อเนื่อง ประกอบกับสับปะรดมีสภาพต้นสมบูรณ์และสภาพอากาศที่เหมาะสม ผลผลิตสับปะรดในประเทศประมาณร้อยละ 80 ของผลผลิตทั้งหมดจะถูกส่งเข้าโรงงานอุตสาหกรรม ที่สำคัญคือ สับปะรดกระป๋อง และน้ำสับปะรดเข้มข้น สับปะรดเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของไทย ด้วยการสร้างรายได้จากการส่งออกมากกว่า 20,000 ล้านบาทต่อปี ผลผลิตสับปะรดแปรรูปของไทยประมาณร้อยละ 90-95 ของผลผลิตทั้งหมดจะถูกส่งออกไปสู่ตลาดต่างประเทศ และสับปะรดไทยยังครองความเป็นประเทศผู้ส่งออกอันดับ 1 ในตลาดโลก โดยเฉพาะสับปะรดกระป๋อง และน้ำสับปะรด ซึ่งถือเป็นสินค้าที่ไทยมีศักยภาพการแข่งขันในตลาดโลก นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดการจ้างงานเป็นจำนวนมาก ทั้งในส่วนของภาคเกษตร โรงงานแปรรูป และโรงงานในอุตสาหกรรมต่อเนื่อง อีกทั้งยังใช้วัตถุดิบในประเทศเป็นหลัก จึงกล่าวได้ว่าอุตสาหกรรมสับปะรด สามารถสร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่ประเทศได้อย่างมากอุตสาหกรรมหนึ่ง (สำนักงานเศรษฐกิจอุตสาหกรรม, 2557) นอกจากนี้สับปะรดยังสามารถนำมาบริโภคสด แปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลายชนิด เช่น สับปะรดกระป๋อง น้ำสับปะรด สับปะรดแช่แข็ง สับปะรดกวน สับปะรดอบแห้งและอื่นๆ เปลือกใช้เป็นอาหารสัตว์ใบใช้ทำเส้นใยและกระดาษ (กรมวิชาการเกษตร, 2555)

สับปะรดมีชื่อสามัญว่า pineapple จัดอยู่ในวงศ์ (family) Bromeliaceae หรือเรียกว่า bromeliad family ในวงศ์นี้มีพืชอยู่ประมาณ 45 สกุล (genera) และ 2,000 ชนิด (species) สับปะรดจัดอยู่ในสกุล *Ananas* และที่ปลูกเป็นการค้าในปัจจุบันจัดเป็นชนิด (species) *comosus* ในประเทศไทยกลุ่มที่นิยมปลูกพบกันอยู่ 3 กลุ่มใหญ่คือ กลุ่ม Spanish, Queen และ Cayenne สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียเป็นพันธุ์ที่ปลูกกันมากจัดอยู่ในกลุ่ม Cayenne เนื่องจากเป็นสับปะรดพันธุ์เดียวที่นิยมส่งเข้าโรงงานแปรรูป สับปะรดเป็นพืชที่มีส่วนขยายพันธุ์หลายส่วน เช่น จุก หน่อดิน หรือตะเกียง อย่างไรก็ตามแต่ละส่วนที่ใช้ในการขยายพันธุ์จะมีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของต้นที่ได้ (มหาวิทยาลัยแม่โจ้, 2556) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นความเจริญก้าวหน้าในด้าน

การเกษตรเกี่ยวกับพืชที่มีการพัฒนาเทคนิคในการขยายพันธุ์แบบใหม่ สามารถผลิตต้นพันธุ์พืชปริมาณมากในระยะเวลาอันรวดเร็วและปลอดโรค (ปวิณ และคณะ, 2553) จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรดจากตายอดและตาข้างของหน่อดินพันธุ์ภูเก็ตด้วยอาหาร Murashige and Tucker-based (MT) ที่เติม IBA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นเพิ่มปริมาณยอดด้วย MS + BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ตัดส่วนใบที่ได้เลี้ยงใน MS + 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีการสร้างยอดย่อยจากส่วนฐานของใบ การพัฒนาเป็นแคลลัสแบบเอ็มบริโอเจนิค (embryogenic) เกิดจากการเลี้ยงส่วนใบใน MS + picloram 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพิ่มปริมาณยอดด้วย MS + BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นเลี้ยงเนื้อเยื่อเอ็มบริโอด้วย MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เอ็มบริโอแบบโซมาติค (somatic) เกิดการพัฒนาเป็นยอด การย้ายแคลลัสแบบเอ็มบริโอเจนิคเลี้ยงในอาหารเหลว MS + picloram 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ MS + 2,4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อพัฒนาเป็นเซลล์แขวนลอย ขณะเดียวกันมีการสร้างยอดจากเอ็มบริโอแบบโซมาติค เมื่อย้ายเซลล์เลี้ยงในอาหารกึ่งแข็ง MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ยอดมีการสร้างรากในอาหาร MS ที่ไม่มีการเติมสารเร่งการเจริญเติบโต ก่อนการเอาออกจากขวดและปรับสภาพเพื่อย้ายปลูกในโรงเรือน (Sripaoraya *et al*., 2003) จากนั้น Zheng *et al*. (2005) ได้ทดลองขยายพันธุ์สับปะรดอย่างรวดเร็วด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพบว่าอาหารที่เหมาะสมต่อการงอกของตาคือ MS + 6-BA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเพิ่มปริมาณได้ 8.1 เท่าภายใน 30 วันและถ้าเป็นอาหารเหลว จะเพิ่มปริมาณได้ถึง 18.2 เท่า อาหารที่เหมาะสมต่อการเกิดรากคือ 1/2 MS + IBA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร การย้ายปลูกต้นอ่อนลงในดิน red loam ผสมทรายและปุ๋ยอินทรีย์ในอัตราส่วน3:1:1 และมีเปอร์เซ็นต์รอดร้อยละ 95 และมีการพัฒนาวิธีการขยายพันธุ์สับปะรดด้วยอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA 0.8–1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และได้ต้นจำนวน 8-9 ต้นในระยะเวลา 8 สัปดาห์ และสามารถย้ายเข้าโรงเรือน (nethouse) ในระยะการเร่งรากแทนการใช้ห้องควบคุมสภาวะแวดล้อม มีการรอดตายร้อยเปอร์เซ็นต์เมื่ออายุ 10 สัปดาห์ โดยค่าใช้จ่ายลดลงร้อยละ 20 (Be and Debergh, 2006) ในปัจจุบันมีการใช้วิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์ในพืชหลายชนิดที่ผลิตในการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร ซึ่งเป็นการนำเทคโนโลยีด้านเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในกระบวนการผลิตและพัฒนาอุตสาหกรรมสับปะรดของประเทศต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินและออกซินต่อการเพาะเลี้ยงสับปะรดในสภาพปลอดเชื้อ

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมชิ้นส่วนพืช นำจุก (crown) ของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย ลอกกาบใบออกเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2.5-3 เซนติเมตร นำมาทำความสะอาดด้วยน้ำยาล้างจานในน้ำไหลผ่านนาน 10 นาที แล้วฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70% นาน 1 นาที จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอร๊อกซ์ 10% นาน 15 นาที และคลอร๊อกซ์ 5% นาน 15 นาที ตามลำดับ นำเข้าตู้ปลอดเชื้อ ล้างจุกสับปะรดด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที ตัดส่วนโคนจุกทิ้งและตัดส่วนบนของจุกที่มีตายอด ขนาด 1 เซนติเมตร^3 นำมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog) ที่เติม BAP (6-Benzylaminopurine) ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระดับ pH 5.7 ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ปริมาณแสง 3000 ลักซ์ 8 ชั่วโมง เป็นเวลา 12 สัปดาห์ เพื่อมีการชักนำการสร้างยอดใหม่ โดยจะนำยอดใหม่ที่ได้ไปใช้สำหรับการทดลองต่างๆ ต่อไป

การทดลองที่ 1 ระดับความเข้มข้นของ BAP ต่อการชักนำยอด

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) โดยนำต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงดังกล่าวข้างต้น สูงประมาณ 1 เซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระดับ pH 5.7 จำนวน 4 ซ้ำ รวม 16 ขวด ปริมาตรของอาหาร 20 มิลลิลิตรต่อ 1 ขวด นำมาเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ปริมาณแสง 3000 ลักซ์ 8 ชั่วโมง เป็นเวลา 10 สัปดาห์ บันทึกจำนวนต้นที่เกิดใหม่ และความสูงของต้น ทุกสัปดาห์

การทดลองที่ 2 ระดับความเข้มข้นของ NAA ต่อการชักนำราก

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) โดยนำต้นอ่อนของสับปะรด สูงประมาณ 1 เซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม NAA (α-Naphthaleneacetic acid) ความเข้มข้น 0 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ระดับ pH 5.7 จำนวน 4 ซ้ำ รวม 16 ขวด ปริมาตรของอาหาร 20 มิลลิลิตรต่อ 1 ขวด นำมาเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ปริมาณแสง 3000 ลักซ์ 8 ชั่วโมง เป็นเวลา 10 สัปดาห์ บันทึกจำนวนรากที่เกิดทุกสัปดาห์

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Least Significance Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ Sirichai Statistics 6.07 (ศิริชัย, 2550)

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การทดลองที่ 1 ระดับความเข้มข้นของ BAP ต่อการชักนำยอด

จากการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนสับปะรดในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร pH 5.7 เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้าสับปะรดมีการรอดชีวิตทั้งหมดในทุกสูตรอาหาร สำหรับการเจริญเติบโต พบว่าความสูงของต้นเริ่มมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญและนัยสำคัญยิ่งตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 โดยในสัปดาห์ที่ 10 สูตรอาหาร MS ที่เติม BAP 0 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความสูงของต้นเฉลี่ย 18.50 15.50 8.50 และ 8.25 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

การชักนำให้เกิดต้น พบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติม BAP ทุกสูตรมีการเกิดต้นใหม่ในสัปดาห์ที่ 3 หลังการย้าย โดยในสัปดาห์ที่ 10 อาหาร MS ที่เติม BAP 0 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีต้นใหม่ที่เกิดขึ้นจำนวน 2.0 4.25 2.5 และ 2.0 ต้น ตามลำดับ โดยอาหาร MS ที่เติม BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีต้นใหม่เกิดขึ้นจำนวนมากที่สุด รองลงมาคืออาหาร MS ที่เติม BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ต้นใหม่ที่ได้ในอาหารที่เติม BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตรมีลักษณะต้นและใบมีขนาดเล็กกว่าต้นที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ ยังพบว่าเริ่มมีการเกิดกลุ่มเซลล์ขนาดเล็กหรือแคลลัสในอาหาร MS ที่เติม BAP ในช่วงสัปดาห์ที่ 6 ที่บริเวณโคนต้นและพัฒนาจากแคลลัสเป็นยอดขนาดเล็กในสัปดาห์ที่ 11 ต่อมาในช่วงอายุ 24 สัปดาห์ มียอดใหม่ที่เกิดขึ้นจำนวนมากในอาหารที่เติม BAP ทุกสูตร (ภาพที่ 1) และเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 48 สัปดาห์ อาหาร MS ที่เติม BAP 0 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มียอดใหม่ที่เกิดขึ้นจำนวนเฉลี่ย 3.5 50 25 และ 9.5 ต้น ตามลำดับ โดยในอาหาร MS ที่เติม BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มียอดใหม่ที่เกิดขึ้นลักษณะสมบูรณ์ จำนวนมากกว่าสูตรที่เติม BAP 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 2)

การชักนำต้น สูตรอาหาร MS ที่เติม BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีต้นใหม่เกิดขึ้นจำนวนมากที่สุด มีลักษณะต้นและใบที่สมบูรณ์กว่าอาหารที่เติม BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ยอดมีขนาดเล็กกว่า และมีการเกิดแคลลัสในอาหารที่เติม BAP ทุกสูตร ซึ่งเป็นการพัฒนาเป็นต้นโดยทางอ้อม โดยขนาดของแคลลัสและลักษณะ

ของแคลลัสเป็นแบบอัดกันแน่น (compact callus) และมีขนาดที่เพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของ BAP ลักษณะแคลลัสที่เกิดเป็นแบบเอ็มบริโอเจนิค (embryogenic callus) สามารถพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ในระยะต่อมา โดยได้จำนวนต้นเพิ่ม 2.13 เท่า ใน 10 สัปดาห์ และ 14.28 เท่า ใน 48 สัปดาห์ เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรที่ไม่มีการเติม BAP สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sripaoraya *et al*. (2003) ที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต ซึ่งมีการพัฒนาเป็นแคลลัสแบบเอ็มบริโอเจนิคจากส่วนฐานของใบ เพิ่มปริมาณยอดด้วย MS ที่เติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และเลี้ยงเนื้อเยื่อเอ็มบริโอให้พัฒนาเป็นยอด ด้วย MS ที่เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 1 การเจริญเติบโตของต้นสับปะรดในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้นต่างกัน สัปดาห์ที่ 4-10

การเจริญเติบโต	BAP (มก/ล.)	สัปดาห์ที่ 4	5	6	7	8	9	10
ความสูงต้น (มม.)	0	14.00[a]	16.00[a]	17.75[a]	19.00[a]	18.00[a]	17.00[a]	18.50[a]
	1	9.75[ab]	11.00[b]	13.50[ab]	11.00[b]	12.25[b]	14.25[ab]	15.50[ab]
	2	11.00[ab]	11.00[b]	12.50[b]	10.75[b]	11.75[b]	8.25[b]	8.50[b]
	3	6.50[b]	9.25[b]	10.00[b]	10.75[b]	10.50[b]	7.50[b]	8.25[b]
	CV %	28.51	17.74	21.13	22.13	21.60	35.98	37.91
	F-test	*	**	*	**	*	*	*

หมายเหตุ ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ
* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %
** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ภาพที่ 1 ลักษณะต้นสับปะรดที่ได้จากการชักนำยอดในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน เป็นเวลา 24 สัปดาห์

0 mg l^{-1} 1 mg l^{-1} 2 mg l^{-1} 3 mg l^{-1}

ภาพที่ 2 ลักษณะต้นสับปะรดที่ได้จากการชักนำยอดในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน เป็นเวลา 48 สัปดาห์

0 mg l^{-1} 1 mg l^{-1} 2 mg l^{-1} 3 mg l^{-1}

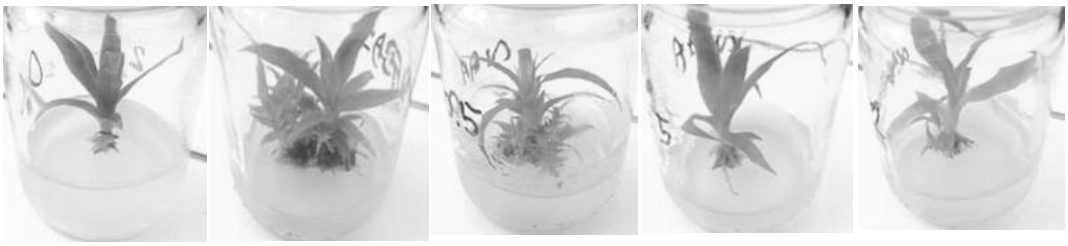
การทดลองที่ 2 ระดับความเข้มข้นของ NAA ต่อการชักนำราก

การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนสับปะรดในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร pH 5.7 เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าความสูงของต้นมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งในสัปดาห์ที่ 10 สูตรอาหาร MS ที่เติม NAA 0 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความสูงของต้นเฉลี่ย 21.50 40.00 43.25 45.00 และ 57.25 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2 และภาพที่ 3)

การชักนำให้เกิดราก พบในสูตรอาหาร MS พื้นฐานในสัปดาห์ที่ 2 และมีรากเกิดขึ้นในอาหารทุกสูตรในสัปดาห์ที่ 6 และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติของสูตรอาหารที่ใช้ทดสอบ ในสัปดาห์ที่ 10 โดยมีความแตกต่างระหว่างอาหาร MS และอาหารที่เติม NAA ทุกสูตร อาหารที่เติม NAA 0 0.5 1 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีรากเกิดขึ้นจำนวน 0.25 9.00 13.25 13.00 และ 16.00 ราก ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ในอาหารที่เติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดรากจำนวนมากที่สุดและรากที่ได้มีลักษณะสมบูรณ์ (ภาพที่ 3)

การชักนำราก พบในอาหารที่เติม NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดรากจำนวนมากที่สุดและรากที่ได้มีลักษณะสมบูรณ์จำนวน 16.00 ราก ในสัปดาห์ที่ 10 โดยคิดเป็นรากที่เพิ่ม 64 เท่า จากสูตรที่ไม่มีการเติม NAA ใน 10 สัปดาห์ และสามารถย้ายต้นออกจากขวดเพื่อเตรียมเข้าโรงเรือน ใน 15 สัปดาห์ โดยใช้วัสดุปลูกที่ผสมระหว่างทราย ขี้เถ้าแกลบ และขุยมะพร้าว ในอัตราส่วน 1:1:1 ต้นที่ย้ายมีการรอดตายทั้งหมด ซึ่งจากการวิจัยของ Zheng *et al*. ในปี 2005 รายงานเกี่ยวกับอาหารที่เหมาะสมต่อการเกิดรากสับปะรด คือ 1/2 MS ที่เติม IBA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร การย้ายปลูกต้นอ่อนลงในดิน red loam ผสมทรายและปุ๋ยอินทรีย์ในอัตราส่วน3:1:1 และมีเปอร์เซ็นต์รอดร้อยละ 95

ภาพที่ 3 ลักษณะต้นสับปะรดในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน เป็นเวลา 10 สัปดาห์



0 mg l^{-1} 0.5 mg l^{-1} 1 mg l^{-1} 1.5 mg l^{-1} 2 mg l^{-1}

ตารางที่ 2 การเจริญเติบโตของต้นสับปะรดในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้นต่างกัน สัปดาห์ที่ 6-10

การเจริญเติบโต	ความเข้มข้น	สัปดาห์ที่				
	NAA (มก/ล.)	6	7	8	9	10
ความสูงต้น	0	22.25	22.25	24.50	24.75^{c}	21.50^{b}
(มม.)	0.5	22.75	25.50	28.00	33.75^{bc}	40.00^{ab}
	1	29.75	32.75	37.25	39.25^{abc}	43.25^{ab}
	1.5	27.25	32.75	37.50	42.75^{ab}	45.00^{ab}
	2	37.50	44.75	49.25	53.00^{a}	57. 52^{a}
	CV %	33.52	34.08	33.21	26.67	24.55
	F-test	ns	ns	ns	*	**
จำนวนรากที่เกิด	0	0.25^{b}	0.25^{c}	0.25^{b}	0.25^{c}	0.25^{b}
	0.5	1.75^{b}	2.50^{bc}	4.25^{ab}	4.50^{bc}	9.00^{a}
	1	1.75^{b}	7.50^{ab}	11.00^{a}	11.25^{ab}	13.25^{a}
	1.5	4.50^{ab}	5.50^{abc}	6.75^{ab}	11.00^{ab}	13.00^{a}
	2	8.75^{a}	11.75^{a}	12.25^{a}	14.00^{a}	16.00^{a}
	CV %	81.08	57.97	61.14	41.35	31.85
	F-test	**	**	**	**	**

หมายเหตุ ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

** มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

สรุป

การเจริญและพัฒนาของสับปะรดในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลต่อการเกิดต้นใหม่จำนวนมาก ลักษณะสมบูรณ์ จำนวน 4.25 ต้น ในสัปดาห์ที่ 10 การเกิดแคลลัสพบเฉพาะในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 1 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และพัฒนาเป็นยอดลักษณะสมบูรณ์จำนวนมากในอาหาร MS ที่เติม BAP 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในเวลา 24 สัปดาห์ สำหรับการพัฒนาเป็นรากที่มีลักษณะสมบูรณ์ จำนวน 16 ราก ในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 10 สัปดาห์

ข้อเสนอแนะ

ควรทดลองใช้สารเร่งการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินและไซโตไคนินร่วมกัน ระดับความเข้มข้นของสารที่เหมาะสม ตลอดจนการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว ในการเพิ่มปริมาณยอดและรากเพื่อการขยายพันธุ์สับปะรดให้ได้ปริมาณมากในเวลาอันรวดเร็วยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่สนับสนุนเงินงบประมาณเงินรายได้คณะ ปี 2556 ในการดำเนินโครงการวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. (2555). ความสำคัญของสับปะรด, 12 เมษายน 2557. http://www.doa.go.th

ปวิณ ภิรมย์, อรวรา ดำนิล, ปณิดา ศิลารัตน์ และพัชรา พงศ์มานะวุฒิ. (2553). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, 4 มกราคม 2557. http://www.thaigoodview.com/library/contest2553.

ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. (2555). ความสำคัญของสับปะรด, 15 เมษายน 2557. แหล่งที่มา http://ait.nisit.kps.ku.ac.th/dbfieldcrop/importtant/pineapple.htm

มหาวิทยาลัยแม่โจ้. (2556). การผลิตสับปะรด, 23 กันยายน 2557.

ศิริชัย อุ่นศรีสงค์. (2550). โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ Sirichai Statistics 6.07, 3 กรกฎาคม 2557 http:// www.agric-prod.mju.ac.th/agronomy/

สำนักงานเศรษฐกิจอุตสาหกรรม. (2557). โครงสร้างอุตสาหกรรมสับปะรด, 23 กันยายน 2557 http://www.nfi.or.th/vc-pineapple/index.php/pineapple.../st09/94-pine

Be, L.V. and Debergh, P.C. (2006). Potential low-cost micropropagation of pineapple (*Ananas comosus*). South African Journal of Botany 72, 191 – 194.

Sripaoraya, S. ,Marchant, R., Power, J. B. and Davy, M.R. (2003). Plant regeneration by somatic embryogenesis and organogenesis in commercial pineapple (*Ananas comosus* L.). In Vitro Cell 39, 450-454.

Zheng, J., Li, H. and Gan, Y. (2005). Studies on tissue culture and rapid propagation with low cost of pineapple cultivar. Mibao. Mintai Horticultural Research Center, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Zhangzhou, Fujian China.