อิทธิพลของสูตรอาหารสังเคราะห์และความเข้มข้นของ 6-benzyladenine ต่อการเพิ่มจำนวนยอดของสับปะรดภูแล

Influence of Culture Media and Concentrations of BA on Shoot Multiplication of Pineapple cv. Phulae

สกุลรัตน์ แสนปุตะวงษ์*
Sakulrat Sanputawong*

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของสูตรอาหารสังเคราะห์และระดับความเข้มข้นของ 6-benzyladenine (BA) ต่อการเพิ่มจำนวนยอดของสับปะรดภูแลโดยนำต้นสับปะรดภูแลที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige และ Skoog (MS) ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตอายุ 3 เดือน มาตัดแต่งและวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ ½MS เติม BA ความเข้มข้น 0-2 มิลลิกรัมต่อลิตร จากผลการทดลองพบว่า อาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การสร้างยอดรวมสูงสุด 73.33 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอด 7.63 ยอดต่อต้น แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับการเติม BA ที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ

คำสำคัญ: สูตรอาหาร, การเพิ่มจำนวนยอด, สับปะรดภูแล, 6-benzyladenine

Abstract

This research aimed to study on influence of culture media and concentrations of 6-benzyladenine (BA) on shoot multiplication of pineapple cv. Phulae was performed. The research implemented that method to perform plant growth regulator free Murashige and Skoog (MS) medium for 3 months. They were done by cut and cultured on MS and½MS medium supplemented with 0-2 mg/l of BA. The results revealed that MS medium supplemented with 0.5 mg/l of BA was the highest shoot multiplication frequency at 73.33% and shoot numbers at 7.63 shoots/plant, highly significant different with other concentrations of BA.

Keywords: Culture medium, Shoot multiplication, Pineapple cv. Phulae, 6-benzyladenine

*อาจารย์ประจำสาขาพืชศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

1. บทนำ

สับปะรดเป็นไม้ผลหลายฤดูสามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี ทำให้มีมูลค่าการส่งออกเป็นอันดับหนึ่งของประเทศประมาณ 122,511 ล้านบาท (ปรีชญา ณรงค์เชษฐ์, 2553) ผลผลิตสามารถแปรรูปเป็นสับปะรดอบแห้ง สับปะรดแช่แข็ง และใช้เป็นวัตถุดิบในโรงงานสับปะรดกระป๋อง นอกจากนี้ใบและลำต้นสามารถนำมาทำเป็นเส้นใยได้ สับปะรดที่บริโภคภายในประเทศส่วนใหญ่นิยมรับประทานผลสด โดยเฉพาะสับปะรดภูแล ซึ่งมีผลขนาดเล็ก เนื้อสีทอง กลิ่นหอม ทำให้มีราคาค่อนข้างแพง (วายุ ชมจันทร์, 2557) ส่งผลให้เกษตรกรนิยมปลูกสับปะรดภูแลเพิ่มมากขึ้น ทำให้ต้นพันธุ์ไม่เพียงพอต่อความต้องการของเกษตรกร และผลผลิตไม่เพียงพอต่อความต้องการของท้องตลาด อีกทั้งต้นกล้าสับปะรดมักมีปัญหาเรื่องโรคและแมลงเข้าทำลาย ซึ่งการขยายพันธุ์สับปะรดโดยทั่วไปนิยมขยายพันธุ์จากชิ้นส่วนต่างๆ เช่น จุก หน่อดิน หรือตะเกียง ซึ่งชิ้นส่วนที่นำมาใช้ในการขยายพันธุ์มีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิต ปัญหาของการปลูกสับปะรดที่สำคัญคือโรคที่ติดมาจากต้นพันธุ์เดิม ทำให้เกิดการแพร่ระบาดของโรคมากยิ่งขึ้น ทำให้เกิดความเสียหายเป็นวงกว้าง ดังนั้นจึงได้นำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้ามาช่วยในการขยายพันธุ์เพื่อให้ต้นใหม่ที่ได้ปลอดจากโรค และได้ปริมาณต้นสับปะรดภูแลจำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น รวมถึงได้ผลผลิตที่มีความสม่ำเสมอมากกว่าการขยายพันธุ์โดยวิธีอื่น (รังสฤษฎ์ กาวีต๊ะ, 2545) การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนพืชจำเป็นต้องเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน หรือไซโคไคนิน หรือทั้งสองชนิดลงในอาหารเพาะเลี้ยง เพื่อช่วยให้เนื้อเยื่อพืชเจริญเติบโตได้ดียิ่งขึ้น โดยพืชแต่ละชนิดมีความต้องการสารควบคุมการเจริญเติบโตในปริมาณที่แตกต่างกัน (บุญยืน กิจวิจารณ์, 2544) สารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมใช้ ได้แก่ สาร 6-benzyladenine (BA) ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มไซโตไคนินมีบทบาทสำคัญในกระบวนการแบ่งเซลล์ การเกิดตาข้าง และการชักนำการเกิดยอดรวมในกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งจากการรายงานของวุฒิชัย ศรีช่วย และสมปอง เตชะโต (2557) ได้ทำการศึกษาผลของคลอรีนไดออกไซด์ต่อการทำให้ปลอดเชื้อในการเพาะเลี้ยงสับปะรดภูแลด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ ศึกษาผลของ BA ต่อการเพิ่มจำนวนยอดรวมของสับปะรดภูแล โดยนำต้นสับปะรดภูแลอายุ 1 เดือน มาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 7.8 ยอดต่อต้นดังนั้นในการศึกษานี้จึงได้ทำการศึกษาอิทธิพลของสูตรอาหารสังเคราะห์และระดับความเข้มข้นของ BA ต่อการเพิ่มจำนวนยอดของสับปะรดภูแลโดยการเติมBA ระดับความเข้มข้นต่างๆ ลงในอาหารสูตรMS และ ½ MS เพื่อศึกษาการเกิดยอดใหม่และเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดใหม่ของสับปะรดภูแลในหลอดทดลอง

2. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีวิจัย

วัสดุพืช ต้นสับปะรดภูแลในสภาพปลอดเชื้ออายุ 3 เดือน ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต

วิธีการ นำต้นสับปะรดภูแลมาตัดแต่ง (ภาพที่ 1) และวางเลี้ยงบนอาหาร 2 สูตรคือ MS และ ½ MS เติม BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำมาวางเลี้ยงในห้องวางเลี้ยงที่ควบคุมอุณหภูมิ 27±2 องศาเซลเซียส ให้แสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 25

ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดรวม และจำนวนยอด หลังการวางเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน เปรียบเทียบกันในแต่ละสูตรอาหารและระดับความเข้มข้นของ BA วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design (CRD) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)แต่ละสิ่งทดลองทำ 10 ซ้ำๆ ละ 3 ขวด (1 ขวด วางเลี้ยง 1 ต้น)

ภาพที่ 1 การตัดแต่งชิ้นส่วนเริ่มต้นของต้นสับปะรดภูแลก่อนนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ

3. ผลการวิจัย

3.1 การเพิ่มจำนวนยอดของสับปะรดภูแล

จากการวางเลี้ยงต้นสับปะรดภูแลบนอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า อาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การเพิ่มจำนวนยอดใหม่สูงสุด 7.63 ยอดต่อต้น (ตารางที่ 1) รองลงมาคือ อาหารสูตร ½ MS เติม BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร ½ MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ให้การเพิ่มจำนวนยอดใหม่ 6.33 และ 5.67 ยอดต่อต้น ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับอาหารสูตรอื่นๆ

เมื่อพิจารณาผลของสูตรอาหาร MS และ ½ MS พบว่า อาหารสูตร ½ MS ให้การเกิดยอดใหม่เฉลี่ย 4.80 ยอดต่อต้นสูงกว่าสูตรอาหาร MS แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และอาหาร ½MS เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 6.98 ยอดต่อต้น แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับอาหารที่เติม BA ความเข้มข้นอื่นๆ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 การเกิดยอดใหม่ของสับปะรดภูแลที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ ½ MS เติม BA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 3 เดือน

สิ่งทดลอง	จำนวนยอดต่อต้น		ค่าเฉลี่ย[1] สูตรอาหาร
	MS	½ MS	
1. ไม่เติม BA	1.33[e]	5.67[c]	3.50D
2. เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร	7.63[a]	6.33[b]	6.98A
3. เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร	2.50[e]	5.33[cd]	3.92B
4. เติม BA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร	2.47[e]	5.00[d]	3.74C
5. เติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร	1.63[e]	1.67[e]	1.67E
ค่าเฉลี่ย[2] การเติม BA	3.11B	4.80A	**
			CV 14.65%

หมายเหตุ

** คือ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$)

[1, 2] คือ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแนวตั้งและแนวนอน (อักษรพิมพ์ใหญ่) และปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่าง 2 ปัจจัย (ตัวพิมพ์เล็ก) ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรร่วมกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

3.2 อัตราการสร้างยอด

จากการวางเลี้ยงต้นสับปะรดภูแลบนอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า อาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิดยอดรวมสูงสุด 73.33 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ อาหารสูตร ½ MS เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิดยอดรวม 70.00 และแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับอาหารสูตรอื่นๆ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 อัตราการเกิดยอดรวมของสับปะรดภูแลที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ ½MS เติม BA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 3 เดือน

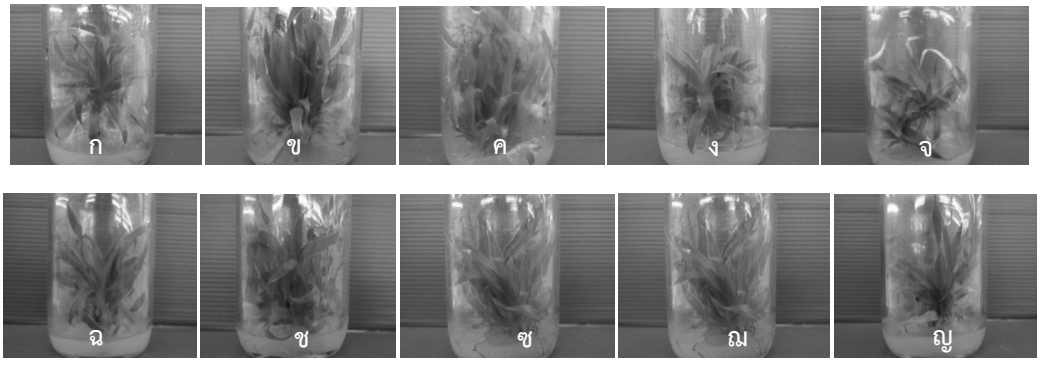
สิ่งทดลอง	อัตราการเกิดยอดรวม (%)		ค่าเฉลี่ย สูตรอาหาร
	MS	½ MS	
1. ไม่เติม BA	30.00[h1/]	33.33[gh]	31.67E
2. เติม BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร	73.33[a]	70.00[ab]	71.67A
3. เติม BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร	46.67[ef]	63.33[bc]	55.00B
4. เติม BA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร	50.00[de]	56.67[cd]	53.34C
5. เติม BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร	40.00[gf]	43.33[ef]	41.67D
ค่าเฉลี่ย การเติม BA	48.00B	53.33A	**
			CV 17.16%

หมายเหตุ

** คือ แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$)

[1, 2] คือ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแนวตั้งและแนวนอน (อักษรพิมพ์ใหญ่) และปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่าง 2 ปัจจัย (ตัวพิมพ์เล็ก) ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรร่วมกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี DMRT

เมื่อพิจารณาผลของสูตรอาหาร MS และ ½ MS ต่ออัตราการเกิดยอดรวมพบว่า อาหารสูตร ½ MS ให้การเกิดยอดใหม่สูงกว่าอาหารสูตรMS โดยให้อัตราการเกิดยอดรวมเฉลี่ย 53.33 เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของ BA พบว่าความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิดยอดรวมเฉลี่ยสูงสุด 71.67% แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับอาหารที่เติม BA ความเข้มข้นอื่นๆ (ตารางที่ 2) เมื่อเพาะเลี้ยงสับปะรดภูแลบนอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 3 เดือน ให้การเกิดยอดที่แตกต่างกัน (ภาพที่ 2) หลังจากนั้นนำต้นสับปะรดภูแลไปอนุบาลในโรงเรือน (ภาพที่ 3) พบว่าหลังการอนุบาล 1 เดือน สับปะรดภูแลให้อัตราการรอดชีวิตสูงถึง 90% โดยในแต่ละสูตรอาหารให้อัตราการรอดชีวิตไม่แตกต่างกัน



ภาพที่ 2 การเกิดยอดของสับปะรดภูแลหลังเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 3 เดือน

ก: MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต
ข: MS เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
ค: MS เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
ง: MS เติม BA ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
จ: MS เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
ฉ: ½MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต
ช: ½MS เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
ซ: ½MS เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
ฌ: ½MS เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร
ญ: ½MS เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ภาพที่ 3 ต้นสับปะรดภูแลที่อนุบาลภายในโรงเรือนเป็นเวลา 1 เดือน

4. วิจารณ์ผล

หลังการเพาะเลี้ยงสับปะรดภูแลบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน สับปะรดภูแลมีการเกิดยอดรวมสูงสุด 7.63 ยอดต่อต้น และมีอัตราการเกิดยอดรวมสูงสุดเฉลี่ย 73.33 เปอร์เซ็นต์ จากการทดลองจะเห็นได้ว่า BA ในระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ถือเป็นระดับที่เหมาะสมสามารถให้การเกิดยอดได้สูงสุด ในขณะที่การรายงานของวุฒิชัย ศรีช่วย และสมปอง เตชะโต (2557) ที่ทำการทดลองผลของ BA ต่อการเพิ่มจำนวนยอดของสับปะรดภูแล โดยนำต้นสับปะรดภูแลอายุ 1 เดือน วางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้นเพียง 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ก็สามารถชักนำยอดรวมได้สูงสุดเฉลี่ย 7.8 ยอดต่อต้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอายุของชิ้นส่วนพืชไม่เท่ากัน โดยชิ้นส่วนสับปะรดอายุ 1 เดือน มีเนื้อเยื่อพืชที่อ่อนมีกิจกรรมการแบ่งเซลล์ที่ต่อเนื่องจึงไม่จำเป็นต้องใช้ BA ในระดับความเข้มข้นที่สูงก็สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ แต่จากการทดลองนี้ใช้ชิ้นส่วนสับปะรดอายุ 3 เดือน จึงจำเป็นต้องใช้ BA ในระดับความเข้มข้นที่สูงกว่าอย่างไรก็ตามในพืชบางชนิดระดับความเข้มข้นของ BA มากเกินไปส่งผลให้เกิดความเป็นพิษกับพืชทำให้พืชไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้ เช่นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *Bienertiasinuspersici* พบว่า BA ความเข้มข้นสูงส่งผลให้ยอดยืดยาวช้า (Northmore *et al*., 2012) Domyos & Te-chato (2013) รายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระจูดว่าการเพิ่มความเข้มข้นของ BA ส่งผลให้มีการสร้างยอดรวมมากขึ้น แต่ความสูงของต้นลดลง และการเพาะเลี้ยงกล้วยไม้หวาย Sakura Pink ในอาหารเติม BA เข้มข้นสูง ทำให้จำนวนยอดลดลง (โสภา ชูเพ็ง และวลิณี ไชยสุวรรณ, 2555) เช่นเดียวกับในการศึกษานี้ที่พบว่าการใส่ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรให้การเกิดยอดใหม่สูงสุด แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BA กลับพบว่ามีการเกิดยอดน้อยลง ดังนั้นในการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตจึงควรใช้ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมไม่มากจนเกินไป เพราะอาจเป็นพิษกับเนื้อเยื่อพืชได้

อาหารสูตรที่ลดองค์ประกอบของสูตรอาหารลงเป็น ½ MS ให้การเกิดยอดใหม่ได้ดีกว่าอาหาร MS ปกติ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในระยะแรกของการแบ่งเซลล์ไม่จำเป็นต้องใช้ธาตุอาหารในระดับความเข้มข้นที่สูง พืชก็สามารถเจริญเติบโตได้ดี และเมื่อเติมสารควบคุมเจริญเติบโตในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมก็จะช่วยเร่งให้เกิดการแบ่งเซลล์เจริญเป็นพืชต้นใหม่ได้ดียิ่งขึ้น

5. สรุป

การเพาะเลี้ยงต้นสับปะรดภูแลบนอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดยอดรวมสูงที่สุดเฉลี่ย 7.63 ยอดต่อต้น และให้อัตราการเกิดยอดรวมสูงสุดเฉลี่ย 73.33 เปอร์เซ็นต์

6. เอกสารอ้างอิง

บุญยืน กิจวิจารณ์. (2544). **เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. ขอนแก่น: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ปรีชญา ณรงค์เชษฐ์. (2553). **การส่งออกสับปะรดภูแล**. ค้นเมื่อ เมษายน 23, 2558, จาก http://www.thaitambon.com.

รังสฤษฎ์ กาวีต๊ะ. (2540). **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช: หลักการและเทคนิค**. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วายุ ชมจันทร์. (2557). **ลักษณะผลของพันธุ์สับปะรด**. สืบค้นเมื่อ เมษายน 23, 2558, จาก http://board.postjung.com

วุฒิชัย ศรีช่วย และสมปอง เตชะโต. (2557). ผลของคลอรีนไดออกไซด์ต่อการทำให้ปลอดเชื้อในการเพาะเลี้ยงสับปะรดภูแลด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์, **วารสารแก่นเกษตร** 4, (พิเศษ 3), 75-80.

โสภา ชูเพ็ง และวลิณี ไชยสุวรรณ. (2555). ผลของ PBZ BA และTDZ ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้หวาย Sakura Pinkในสภาพปลอดเชื้อ, **แก่นเกษตร** 40, 381-387.

Domyos, P. & S. Te-chato. (2013). *In vitro* propagation of*Lepironia articulate* in KuanKreng Peatlands, Nakhon Si Thammrat. **Journal of Agricultural Technology**, 9, 1595-1605.

Northmore, J.A., V. Zhou & S.D.X. Chuong. (2012). Multiple shoot induction and plant regeneration of the single cell C4 species *Bienertiasinuspersici*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, 108, 101-109.