อิทธิพลของสารเร่งการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มปริมาณของหัวพันธุ์มันฝรั่งขนาดเล็ก

The effect of plant growth promoters on increase of microtuber induction in potato

อรทัย วงค์เมธา*,[1/] นงคราญ โชติอิ่มอุดม[1/] สาคร ยังผ่อง[1/] ฐิตาพร เรืองกูล[1/] ศิรินันท์ญา จรินทร[1/] สมคิด รัตนบุรี[1/] สนอง จรินทร[2/]

ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ สถาบันวิจัยพืชสวน

บทคัดย่อ

การศึกษาอิทธิพลของสารเร่งการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มปริมาณของหัวพันธุ์มันฝรั่งขนาดเล็ก ได้ดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ ปี 2557-2558 โดยแบ่งออกเป็นสองการทดลองย่อย การทดลองแรกคือ การผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งขนาดเล็กด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว (Temporary Immersion Bioreactor; TIB) วางแผนการทดลองแบบ แบบ CRD มี 5 กรรมวิธีๆ ละ 4 ซ้ำ ได้แก่ อาหารเหลวสูตร MS, อาหารเหลวสูตร MS + BAP (6-benzylaminopurine), อาหารเหลวสูตร MS + TDZ (Thidiazuron), อาหารเหลวสูตร MS + Kinetin และอาหารเหลวสูตร MS + Mannitol จากการทดลองพบว่า หลังตัดชำข้อได้ 4 สัปดาห์ การใช้อาหารเหลวสูตร MS + BAP (6-benzylaminopurine) สามารถกระตุ้นการเจริญของต้นอ่อนดีที่สุด ใกล้เคียงกับการใช้อาหารเหลวสูตร MS แต่เมื่อระยะเวลาเพิ่มมากขึ้นต้นอ่อนของมันฝรั่งเริ่มชะลอการเจริญเติบโต และหยุดการเจริญเติบโตเมื่ออายุ 5 สัปดาห์ เมื่อต้นมันฝรั่งอายุ 7 สัปดาห์ จะมีสภาพทรุดโทรม และไม่สามารถชักนำให้เกิดหัวได้

การทดลองที่สอง คือ การผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งขนาดเล็กในอาหารแข็ง วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 6 กรรมวิธีๆ ละ 4 ซ้ำ คือ เพาะเลี้ยงด้วยอาหารแข็งสูตร MS (Control), อาหารแข็งสูตร MS + BAP, อาหารแข็งสูตร MS + TDZ, อาหารแข็งสูตร MS + Kinetin, อาหารแข็งสูตร MS + Mannitol และอาหารแข็งสูตร MS + Coconut และทำการบันทึกการเจริญเติบโต และจำนวนหัวของต้นอ่อนมันฝรั่ง พบว่าการใช้อาหารแข็งสูตร MS+6-benzylaminopurine มีจำนวนหัวเฉลี่ย 7.38 หัว น้ำหนักหัวมันฝรั่งเฉลี่ย 0.68 กรัม และน้ำหนักต้นมันฝรั่งทั้งก่อนอบและหลังอบดีที่สุด คือ 1.44 และ 0.19 กรัม ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีอื่นๆ ส่วนการใช้อาหารแข็งสูตร MS + Thidiazuron ให้ขนาดของหัวมันฝรั่งดีที่สุด คือกว้าง 5.28 มิลลิเมตร และยาว 5.21 มิลลิเมตร มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้อาหารแข็งสูตร MS + Coconut

คำหลัก: อาหารสูตร MS, การชักนำ, หัวพันธุ์ขนาดเล็ก, มันฝรั่ง, ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว

รหัสโครงการวิจัยที่ 01-99-58-01-01-00-02-58

ชื่อชุดโครงการ วิจัยและพัฒนามันฝรั่ง **ชื่อโครงการ** การพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่ง
* หัวหน้าการทดลอง
1/ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ 313 ม.12 ต.หนองควาย อ.หางดง จ.เชียงใหม่ 50230 **โทรศัพท์** (053) 114133-36, 114070-71 **โทรสาร** (053) 053-114072 **E-mail:** agriculture_24@hotmail.com
2/ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย เลขที่ 72 หมู่ 1 ต.รอบเวียง อ.เมือง จ.เชียงราย 57000 **โทรศัพท์** (053) 170100, 170102 **โทรสาร** (053) 170103 **E-mail**: chorti@doa.in.th

ABSTRACT

The affect of plant growth promoters on increase of microtuber induction in potato was conducted in research center at the Chiang Mai Royal Agricultural Research Center (CMRARC), Chiang Mai during 2014-2015. These experiments were divided into two experiments, the first experiment, the affect of plant growth promoters on microtubers production of potato in Temporary Immersion Bioreactor (TIB) was determinded. This experiment was designed to accommodate a CRD with four replications and five treatments such as MS, MS + BAP (6-benzylaminopurine), MS + TDZ (Thidiazuron), MS + Kinetin and MS + Mannitol. The result showed that MS + BAP induced potato shoots similar to MS in four weeks after cutting. However, the growth ratio of plantlets was decreased and stopped after five weeks. After 7 weeks, potato plantlets were decay and did not induce microtuber seed production.

The second experiment, the affect of plant growth promoters on microtubers production of potato in agar media was evaluated. All experiments were designed to accommodate a CRD with six treatments such as MS, MS + BAP, MS + TDZ, MS + Kinetin, MS + Mannitol and MS + Coconut. Variables used to measure number of microtuber, weight, size, fresh and dry weight of microtuber. The results showed that MS+ BAP agar was higher significant number of microtubers in potato plantlet (7.38 tubers), weight of microtubers (0.68 gram), and fresh weight and dry weight of plantlet (1.44 and 0.19 gram, respectively) than other treatments.

Key words: MS media, induction, microtuber, potato, Temporary Immersion Bioreactor (TIB)

คำนำ

มันฝรั่ง (*Solanum tuberosum* L.) เป็นพืชอุตสาหกรรมพืชหนึ่ง ที่สามารถทำรายได้สูงให้แก่เกษตรกรในเขตภาคเหนือ คือ มีรายได้ต่อไร่เฉลี่ยอยู่ระหว่าง 15,000-25,000 บาท แหล่งผลิตที่สำคัญอยู่ที่จังหวัดเชียงใหม่ โดยมีผลผลิตคิดเป็นร้อยละ 90 ของผลผลิตทั้งประเทศ ปัจจุบันพื้นที่ปลูกได้ขยายไปยังจังหวัดอื่นๆ และบางพื้นที่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เนื่องจากการขยายตัวอย่างรวดเร็วของอุตสาหกรรมแปรรูปมันฝรั่งในประเทศโดยเฉพาะมันฝรั่งทอดกรอบ (potato chip) ซึ่งนอกจากผลิตเพื่อจำหน่ายในประเทศ และบางส่วนยังส่งออกไปจำหน่ายต่างประเทศ (สนองและคณะ, 2551; สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2555) ทำให้ผู้ประกอบการมีความต้องการวัตถุดิบเพื่อป้อนโรงงานมีปริมาณสูงถึง 10,300 ตัน/เดือน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2544) จึงทำให้เกษตรกรมีความต้องการหัวพันธุ์มันฝรั่ง เพื่อใช้เป็นหัวพันธุ์ขยาย และผลิตหัวมันฝรั่งส่งโรงงาน (รัฐบาลไทย, 2555)

ถึงแม้ว่ากระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้สนับสนุนงบประมาณให้กรมวิชาการเกษตรในการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งทดแทนการนำเข้า แต่ก็ไม่เพียงพอกับความต้องการของเกษตรกร นอกจากนี้เกษตรกรผู้ปลูกมันฝรั่งบางรายมีการเก็บหัวพันธุ์มันฝรั่งขนาดเล็กที่ไม่สามารถขายส่งเข้าโรงงานแปรรูป โดยเก็บรักษาหัวมันฝรั่งขนาดเล็กเหล่านี้ไว้เป็นหัวพันธุ์สำหรับปลูกในฤดูต่อไป ซึ่งประมาณการว่ามีปีละประมาณ 1,000 ตัน หัวพันธุ์มันฝรั่งที่เกษตรกรเก็บไว้ใช้เองเหล่านี้เป็นหัวพันธุ์ที่ไม่มีคุณภาพ เพราะไม่ได้มีวัตถุประสงค์ที่จะผลิตเป็นหัวพันธุ์ตั้งแต่แรกแต่เป็นการปลูกเพื่อขายผลผลิตส่งโรงงาน จึงมีการปลูกดูแลตามปกติทั่วไปไม่เข้มงวดเหมือนการปลูกเป็นหัวพันธุ์ ดังนั้นจึงมีการเกิดโรคสูงโดยเฉพาะโรคไวรัส และโรคเหี่ยวเขียวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (หรือชื่อเดิม *Pseudomonas solanacearum*) เมื่อนำไปปลูกในฤดูต่อไปทำให้ได้ผลผลิตต่ำ

จากปัญหาการนำเข้าหัวพันธุ์มันฝรั่งมีราคาแพงทำให้ต้นทุนการผลิตสูง การผลิตหัวพันธุ์ใช้ภายในประเทศยังมีปริมาณน้อยไม่เพียงพอต่อความต้องการ หัวพันธุ์มันฝรั่งที่เกษตรกรเก็บไว้ใช้เองไม่มีคุณภาพมีการติดโรคมากับหัวพันธุ์ ปัญหาเหล่านี้เป็นข้อจำกัดต่อการขยายตัวของอุตสาหกรรมแปรรูปมันฝรั่งในประเทศไทย จึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาอิทธิพลของสารเร่งการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มปริมาณของหัวพันธุ์มันฝรั่งขนาดเล็ก โดยการใช้อาหารสูตร MS ร่วมกับสารเร่งการเจริญเติบโต ได้แก่ BAP (6-benzylaminopurine), TDZ (Thidiazuron), Kinetin และ Mannitol ในการชักนำให้เกิดหัวพันธุ์ขนาดเล็ก (microtuber) ในอาหารเหลวโดยใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์ และอาหารแข็งในสภาพปลอดเชื้อในห้องปฏิบัติการ อันจะเป็นแนวทางที่จะช่วยให้เกษตรกรได้ใช้หัวพันธุ์ที่มีคุณสมบัติในการแปรรูปดี (processing quality) ผลผลิตสูง ปลอดจากโรค ทำให้เกษตรกรมีรายได้เพิ่มขึ้น และมีคุณภาพชีวิตที่ดี (ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่, 2556; อรทัย, 2557)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อหาสารเร่งการเจริญเติบโตที่เหมาะสมกับที่สามารถชักนำให้เกิดหัวพันธุ์ขนาดเล็กในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว (TIB) และในอาหารแข็ง

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. วัสดุอุปกรณ์ ได้แก่ ขวดแก้วขนาด 4 และ 24 ออนซ์, ฝา, อุปกรณ์เชื่อมต่อชุดไบโอรีแอคเตอร์, ถุงพลาสติกร้อน, คีมคีบ, กรรไกร, จานเพาะเลี้ยง, ผ้า, ฟิล์มถนอมอาหาร
2. วัสดุสารเคมี อาหารเหลวสูตร MS, แอลกอฮอลล์ 70%, ฮอร์โมนเร่งการเจริญเติบโต ได้แก่ BAP อัตรา 1 mgl^{-1}, TDZ อัตรา 1 $mg\ l^{-1}$, Kinetin อัตรา 1 $mg\ l^{-1}$,Mannitol อัตรา 0.1 $mol\ l^{-1}$ และ Coconut อัตรา 100 $ml\ l^{-1}$
3. วัสดุสำนักงาน ได้แก่ กระดาษ, ปากกาเมจิก

วิธีดำเนินการ

1. **การผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งขนาดเล็ก (Microtubers) ด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว**

ดำเนินการทดลองการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่ง (Microtubers) ด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว ในพื้นที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ ปี 2557-2558 วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 5 กรรมวิธีๆ ละ 4 ซ้ำ คือ

กรรมวิธีที่ 1 อาหารเหลวสูตร MS (Control)

กรรมวิธีที่ 2 อาหารเหลวสูตร MS + BAP(6-benzylaminopurine)

กรรมวิธีที่ 3 อาหารเหลวสูตร MS + TDZ (Thidiazuron)

กรรมวิธีที่ 4 อาหารเหลวสูตร MS + Kinetin

กรรมวิธีที่ 5 อาหารเหลวสูตร MS + Mannitol

วิธีดำเนินการทดลอง

การผลิตหัวพันธุ์จากต้นแม่พันธุ์มันฝรั่งด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว (microtubers production from mother plant by using; TIB) ประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้

1. เตรียมขวด ขนาด 24 ออนซ์ พร้อมฝา และต่อเชื่อมอุปกรณ์แยกไว้เป็นชุดๆ ใส่ถุงพลาสติกร้อน
2. เตรียมอาหารเหลวสูตร MS ไม่ใส่วุ้น และไม่ใส่สารเร่งการเจริญเติบโต, อาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับการใส่ฮอร์โมนเร่งการเจริญเติบโต ได้แก่ BAP อัตรา 1 mgl^{-1}, TDZ อัตรา 1 $mg\ l^{-1}$, Kinetin อัตรา 1 $mg\ l^{-1}$ และ Mannitol อัตรา 0.1 $mol\ l^{-1}$โดยใส่ลงในขวด ขนาด 24 ออนซ์ ประมาณ 300 ml ปิดฝาให้แน่น
3. นำขวดและอุปกรณ์ พร้อมขวดอาหารไปนึ่งในหม้อนึ่งความดัน 15 ปอนด์ ประมาณ 20 นาที นำออกมาใส่ตะกร้า ทิ้งไว้ให้เย็น

4. นำขวดและอุปกรณ์ พร้อมขวดอาหาร และต้นมันฝรั่งที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในการทดลองที่ 1 เข้าตู้เขี่ยเชื้อ เช็ดด้วยแอลกอฮอลล์ 70%
5. ใช้กรรไกรตัดต้นมันฝรั่งเป็นข้อๆ ตัดใบทิ้ง โดยใช้คีมคีบวางลงบนจานเพาะเลี้ยงที่มีกระดาษรอง จากนั้นนำไปใส่ในขวดเปล่า ขวดละ 30 ท่อนพันธุ์
6. ปิดฝาขวดด้วยชุดอุปกรณ์ ซึ่งเชื่อมต่อกับขวดอาหาร พันด้วยฟิล์มถนอมอาหาร เขียนรายละเอียด ชื่อ วัน เดือน ปี ไว้บนฝาขวด
7. นำไปวางบนเครื่อง bioreactor ที่ต่อเข้ากับชุดทำงานของเครื่องในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนอาหารแข็งเก็บไว้ในที่มืด 24 ชั่วโมง
8. จากนั้นตั้งเวลาให้อาหาร วันละ 2 ครั้ง ครั้งละ 2 นาที และให้เปลี่ยนอาหารทุก 1 เดือน จนกว่าพืชจะเจริญเติบโตเต็มที่จนเกิดเป็นหัวพันธุ์ขนาดเล็ก ให้ทำการบันทึกข้อมูลในระยะนี้และตรวจสอบความเป็นโรคไวรัส และแบคทีเรีย

2. การผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งขนาดเล็ก (Microtubers) ในอาหารแข็ง

ดำเนินการทดลองการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่ง (Microtubers) ในอาหารเข็ง ที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ ปี 2558-2559 วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 6 กรรมวิธีๆ ละ 4 ซ้ำ คือ

กรรมวิธีที่ 1 อาหารแข็งสูตร MS (Control)
กรรมวิธีที่ 2 อาหารแข็งสูตร MS + BAP(6-benzylaminopurine)
กรรมวิธีที่ 3 อาหารแข็งสูตร MS + TDZ (Thidiazuron)
กรรมวิธีที่ 4 อาหารแข็งสูตร MS + Kinetin
กรรมวิธีที่ 5 อาหารแข็งสูตร MS + Mannitol
กรรมวิธีที่ 6 อาหารแข็งสูตร MS + Coconut

วิธีดำเนินการทดลอง

การผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่ง (Microtubers) ในอาหารแข็งประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้

1. เตรียมอาหารแข็งสูตร MS ใส่วุ้น และไม่ใส่สารเร่งการเจริญเติบโต, อาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับการใส่ฮอร์โมนเร่งการเจริญเติบโต ได้แก่ BAPอัตรา 1 mgl^{-1}, TDZ อัตรา 1 mg l^{-1}, Kinetin อัตรา 1 mgl^{-1}, Mannitol อัตรา 0.1 mol l^{-1} และ Coconut อัตรา 100 ml l^{-1} โดยใส่ลงในขวด ขนาด 4 ออนซ์ ประมาณ 12 ml ปิดฝาให้แน่น
2. นำขวดอาหารไปนึ่งในหม้อนึ่งความดัน 15 ปอนด์ ประมาณ 20 นาที นำออกมาใส่ตะกร้าทิ้งไว้ให้เย็น

3. นำขวดอาหารและต้นมันฝรั่งที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเข้าตู้เขี่ยเชื้อเช็ดด้วย แอลกอฮอลล์ 70%
4. ใช้กรรไกรตัดต้นมันฝรั่งเป็นข้อๆ โดยใช้คีมคีบวางลงบนจานเพาะเลี้ยงที่มีกระดาษรอง จากนั้นนำไปใส่ในขวดอาหารขวดละ 7 ท่อนพันธุ์
5. ปิดฝาขวดให้แน่น เขียนรายละเอียด ชื่อ วัน เดือน ปี ไว้ข้างขวด
9. เก็บขวดเพาะเลี้ยงในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อให้ได้รับแสงจนมีอายุครบ 4 สัปดาห์ จากนั้นเก็บขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในที่มืด 24 ชั่วโมง จนกว่าพืชจะเจริญเติบโตเต็มที่จนเกิดเป็นหัวพันธุ์ขนาดเล็ก ให้ทำการบันทึกข้อมูลในระยะนี้ และตรวจสอบความเป็นโรคไวรัส และแบคทีเรีย

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

การเจริญเติบโต ได้แก่ จำนวนหัว, น้ำหนักหัว (กรัม), ขนาดหัว (ความกว้าง-ยาว), น้ำหนักต้น(ก่อนอบ-หลังอบ)

ระยะเวลา

เริ่มต้น ตุลาคม 2557 **สิ้นสุด** กันยายน 2558

สถานที่ดำเนินการ

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ณ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ อ.หางดง จ.เชียงใหม่

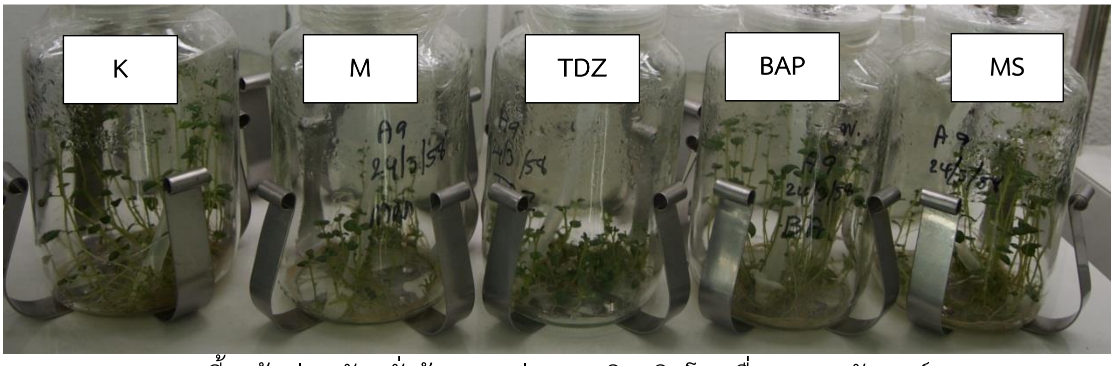
ผลการทดลองและวิจารณ์

2.1 การผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งขนาดเล็ก (microtubers) ด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว

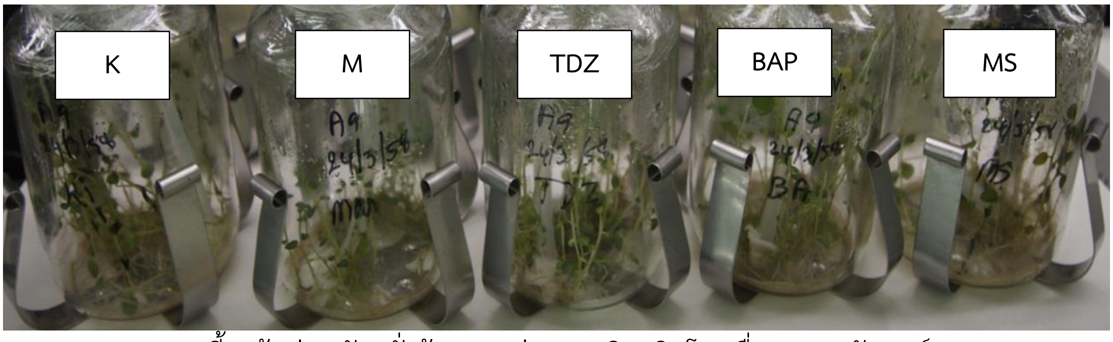
จากการทดลองการผลิตหัวพันธุ์จากต้นแม่พันธุ์มันฝรั่งด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวเมื่ออายุ 4 สัปดาห์ การใช้อาหารเหลวสูตร MS + BAP (6-benzylaminopurine) สามารถกระตุ้นการเจริญของต้นอ่อนดีที่สุด ใกล้เคียงกับการใช้อาหารเหลวสูตร MS เมื่อต้นอ่อนมันฝรั่งอายุ 5 สัปดาห์ การเจริญเติบโตเริ่มช้าลง ใบเริ่มเหี่ยวเฉา เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ลำต้นเปลี่ยนเป็นสีขาว รากและใบเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และเมื่ออายุ 7 สัปดาห์ ลำต้นหยุดการเจริญเติบโต และไม่สามารถชักนำให้เกิดหัวได้ จึงจำเป็นต้องมีการเพิ่มการทดลองการผลิตหัวพันธุ์จากต้นแม่พันธุ์มันฝรั่งด้วยอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับการใส่ฮอร์โมนเร่งการเจริญเติบโตเพื่อศึกษาอิทธิพลของสารเร่งการเจริญเติบโต

การขยายพันธุ์พืชด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว (Temporary Immersion Bioreactor; TIB) เป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้เลี้ยงต้นอ่อนในขั้นตอนการชักนำให้เกิดต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้อ โดยเป็นการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวทั้งหมด ระบบจะประกอบด้วยภาชนะ 2 อันที่เชื่อมต่อ ใช้แรงดันอากาศดัน

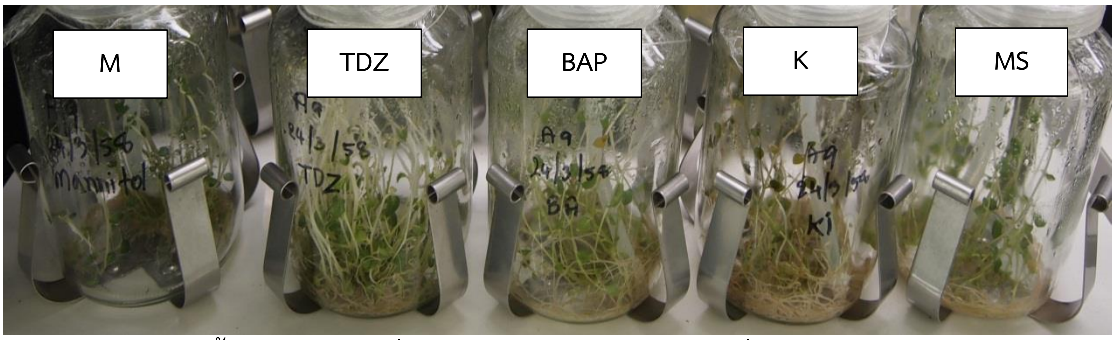
อาหารจากภาชนะใส่อาหารไปยังภาชนะเลี้ยงต้นพืช เพื่อให้พืชได้รับอาหารเหลวชั่วคราว เมื่อครบตามเวลาที่กำหนดจะใช้แรงดันดันอาหารกลับสู่ภาชนะเก็บอาหารเช่นเดิม การเลี้ยงเอ็มบริโอด้วยวิธีนี้ จะสามารถลดแรงงานและเวลาในการเปลี่ยนอาหารลง นอกจากนี้ต้นอ่อนที่ได้จะใช้เวลาในการเจริญเติบโตเร็วกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารแข็ง (ธนกิจ และคณะ, 2555) ซึ่งผลการทดลองที่ได้ไม่สามารถชักนำให้เกิดหัวขนาดเล็กได้ จึงแตกต่างจากงานวิจัยของ Akita and Ohta (2002) ได้ทำการขยายพันธุ์ต้นกล้าของมันเทศโดยใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบหมุนเหวี่ยง โดยนำต้นกล้าเลี้ยงในสูตรอาหารเหลว MS หลังจากนั้น 30 วัน ใส่ BA (1 g/L) ในสารละลายเอทานอล ลงไปในอาหารเหลว เป็นเวลา 3 วันแล้วนำเข้าเครื่องไบโอรีแอคเตอร์ พบว่าชิ้นส่วนมันเทศมีการเจริญเติบโตอย่างเต็มที่ โดยสามารถงอกออกมาเป็นหน่อ (bulbils) หรือหัวเล็กๆ (microtubers) ซึ่งสามารถขยายได้ถึง 230 หัว ให้น้ำหนักรวมเท่ากับ 116.1 กรัม และเมื่อนำไปปลูกในแปลง ร้อยละ 95 สามารถงอกได้ตามปกติภายในเวลา 4 สัปดาห์ และ Piao et al. (2002) ได้ทดลองขยายพันธุ์หัวมันฝรั่งขนาดเล็ก (microtubers) พันธุ์ Atlantic โดยเปรียบเทียบการขยายพันธุ์ในอาหารแข็งสูตร MS และใช้ระบบ bioreactor พบว่าการปลูกในระบบ bioreactor จะทำให้หัวมันฝรั่งเจริญเติบโตและมีหน่อ (shoots) มากกว่าเลี้ยงในอาหารแข็ง และการเพิ่มสาร 6-benzylaminopurine (BAP) ในอาหารเหลวที่เลี้ยงในระบบ bioreactor ให้จำนวนตา (nodes) มากที่สุด คือ 409.2 และน้ำหนักสดของยอด 4.2 กรัม



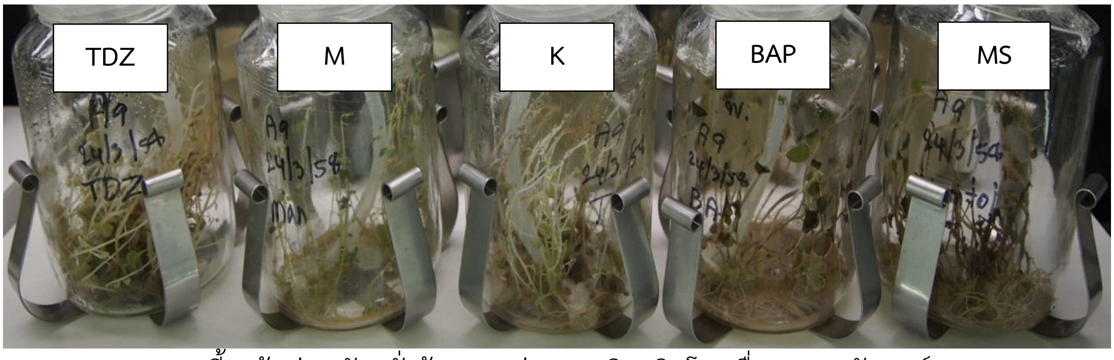
(ก) การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนมันฝรั่งด้วยสารเร่งการเจริญเติบโต เมื่ออายุ 4 สัปดาห์



(ข) การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนมันฝรั่งด้วยสารเร่งการเจริญเติบโต เมื่ออายุ 5 สัปดาห์



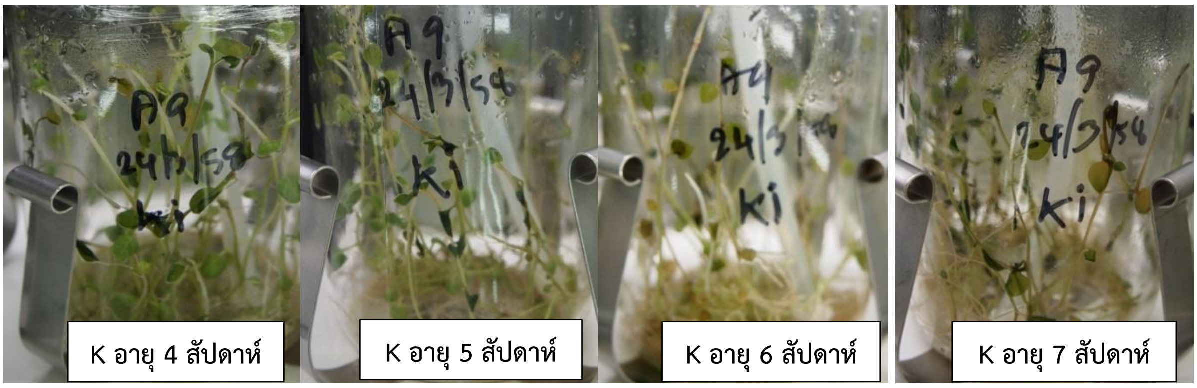
(ค) การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนมันฝรั่งด้วยสารเร่งการเจริญเติบโต เมื่ออายุ 6 สัปดาห์



(ง) การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนมันฝรั่งด้วยสารเร่งการเจริญเติบโต เมื่ออายุ 7 สัปดาห์

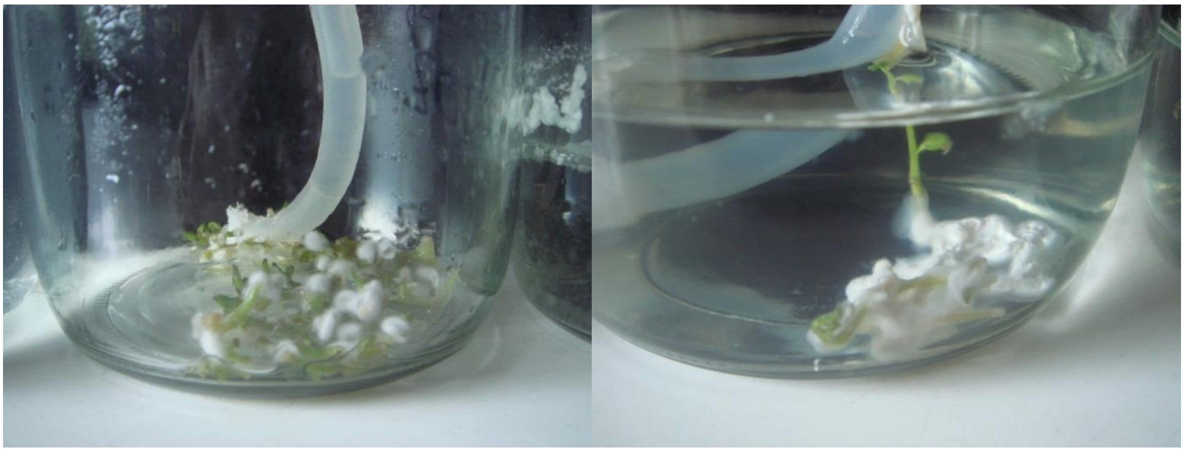
หมายเหตุ: K= Kinetin, M= Mannitol, TDZ = Thidiazuron, BAP = 6-benzylaminopurine

ภาพที่ 5 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันฝรั่งด้วยอาหารสูตร MS ร่วมกับสารเร่งการเจริญเติบโต BAP, TDZ, Kinetin และ Mannitol ในระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว เมื่ออายุ 4-7 สัปดาห์ (ก-ง)



หมายเหตุ: K= Kinetin, M= Mannitol, TDZ = Thidiazuron, BAP = 6-benzylaminopurine

ภาพที่ 6 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันฝรั่งด้วยอาหารสูตร MS ร่วมกับร่วมกับสารเร่งการเจริญเติบโต Kinetin, Mannitol, BAP และ TDZ ในระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว เมื่ออายุ 4-7 สัปดาห์



ภาพที่ 7 การปนเปื้อนเชื้อราในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันฝรั่ง

2.2 การผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งขนาดเล็ก (microtubers) ในอาหารแข็ง

จำนวนหัวของหัวพันธุ์มันฝรั่งขนาดเล็กในอาหารแข็งสูตร MS + 6-benzylaminopurine ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนหัวสูงที่สุดคือ 7.38 หัว ไม่มีความแตกต่างจากอาหารแข็งสูตร MS, MS + Kinetin และ MS + Mannitol ซึ่งมีจำนวนหัวเฉลี่ยเท่ากับ 7.13, 6.75 และ 6.50 หัว ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับอาหารแข็งสูตร MS + Thidiazuron และ MS + Coconut ซึ่งมีจำนวนหัวเฉลี่ยเท่ากับ 6.06 และ 4.50 หัวตามลำดับ (ตารางที่ 3)

น้ำหนักของหัวพันธุ์มันฝรั่งขนาดเล็กในอาหารแข็งสูตร MS + 6-benzylaminopurine ให้ค่าน้ำหนักหัวเฉลี่ยสูงที่สุด 0.68 กรัม ไม่มีความแตกต่างจากอาหารแข็งสูตร MS + Thidiazuron, MS + Mannitol และ MS ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ย 0.63, 0.58 และ 0.56 กรัม ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับอาหารแข็งสูตร MS + Kinetin และ MS + Coconut ที่มีให้ค่าน้ำหนักหัวเฉลี่ยเท่ากับ 0.54 และ 0.18 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ขนาดหัวของหัวพันธุ์มันฝรั่งขนาดเล็กในอาหารแข็งสูตร MS + Thidiazuron มีความกว้างเฉลี่ยของหัวมันฝรั่งมากที่สุดเท่ากับ 5.28 มิลลิเมตร ไม่มีความแตกต่างจากอาหารแข็งสูตร MS, MS + 6-benzylaminopurine, MS + Mannitol และ MS + Kinetin ซึ่งมีความกว้างเฉลี่ยของหัวมันฝรั่งเท่ากับ 5.27, 4.9, 4.92 และ 4.83 มิลลิเมตร ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับอาหารแข็งสูตร MS + Coconut ที่มีความกว้างเฉลี่ยของหัวมันฝรั่งเท่ากับ 3.48 มิลลิเมตร ด้านความยาวเฉลี่ยของหัวมันฝรั่ง อาหารแข็งสูตร MS + Thidiazuron มีความยาวเฉลี่ยของหัวมันฝรั่งเท่ากับ 5.21

มิลลิเมตร ไม่มีความแตกต่างจากอาหารแข็งสูตร MS + 6-benzylaminopurine, MS + Mannitol, MS + Kinetin และ MS ซึ่งมีความยาวเฉลี่ยของหัวมันฝรั่งเท่ากับ 5.20, 4.96, 4.85 และ 4.75 มิลลิเมตร ตามลำดับ แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับอาหารแข็งสูตร MS + Coconut มีความยาวเฉลี่ยของหัวมันฝรั่งเท่ากับ 3.59 มิลลิเมตร (ตารางที่ 3)

น้ำหนักต้นมันฝรั่งก่อนอบ การใช้อาหารแข็งสูตร MS + 6-benzylaminopurine มีน้ำหนักต้นก่อนอบสูงที่สุดเท่ากับ 1.44 กรัม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากอาหารแข็งสูตร MS + Coconut, MS + Kinetin, MS + Mannitol, MS + Thidiazuron และ MS ซึ่งมีน้ำหนักต้นก่อนอบเฉลี่ยเท่ากับ 1.26 1.23 1.04 1.03 และ 0.91 กรัมตามลำดับ (ตารางที่ 3)

น้ำหนักต้นมันฝรั่งหลังอบ การใช้อาหารแข็งสูตร MS + 6-benzylaminopurine มีน้ำหนักต้นหลังอบสูงที่สุดเท่ากับ 0.19 กรัม มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับอาหารแข็งสูตร MS + Kinetin, MS + Mannitol, MS, MS + Coconut และ MS + Thidiazuron ซึ่งมีน้ำหนักต้นหลังอบเฉลี่ยเท่ากับ 0.16 0.15 0.14 0.14 และ 0.12 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

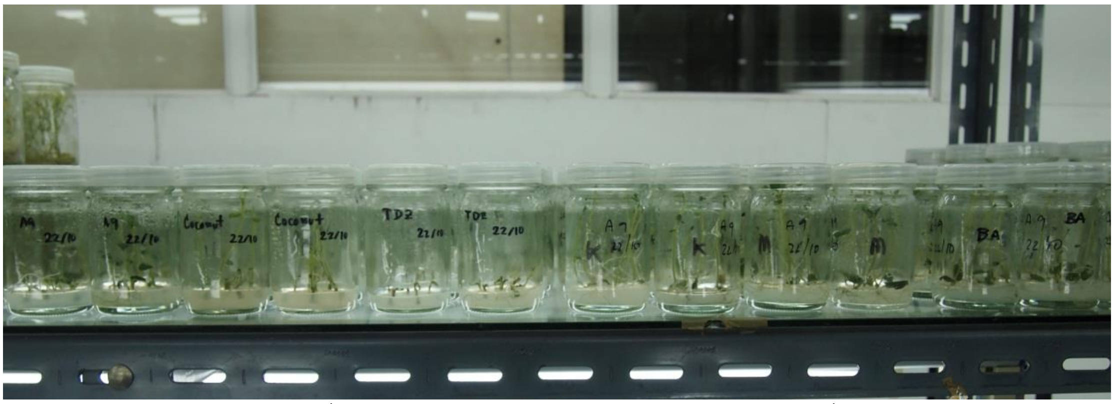
จะเห็นได้ว่า ไซโทไคนิน (cytokinin) ที่สังเคราะห์ได้ในธรรมชาติ คือ ซีอะทิน (zeatin) ใช้ในการกระตุ้นการเจริญเติบโต ไซโทไคนินที่ใช้กันมากคือ ไคเนทิน (kinetin), 2iP (N6-isopentenyl adenine), benzyladenine (BA), Thidiazuron (TDZ) และ BAP (benzylaminopurine) มีหน้าที่ส่งเสริมการแบ่งเซลล์โดยเฉพาะถ้าใช้ร่วมกับออกซินในส่วนที่พอเหมาะ เพื่อกระตุ้นเนื้อเยื่อพืชให้แบ่งตัวอย่างรวดเร็วเกิดเป็นกลุ่มเซลล์ที่เรียกว่า callus และ callus จะเจริญพัฒนาไปจนได้ต้นอ่อนที่ประกอบด้วยต้น ใบ และรากซึ่งสามารถเจริญต่อไปจนกระทั่งได้ต้นที่สมบูรณ์ให้ดอกและเมล็ดได้ (เทิดศักดิ์, 2555) ดังจะเห็นได้จากการทดลองของ Wonganu (2550) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการฟอกฆ่าเชื้อและอัตราส่วนของสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA ร่วมกับ BAP ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดเป็นแคลลัส โดยสูตรอาหาร NAA ความเข้มข้น 2 mg/L ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 0.5 mg/L ทำให้เนื้อเยื่อบีทรูทเกิดเป็นแคลลัสและมีน้ำหนักสดมากที่สุด คือ 3.87 กรัม

ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยจำนวนหัว น้ำหนักหัว ขนาดหัว (ความกว้าง, ความยาว) น้ำหนักต้นก่อนอบ และน้ำหนักต้นหลังอบของหัวพันธุ์มันฝรั่งขนาดเล็ก (microtubers) ในอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับสารเร่งการเจริญเติบโต BAP, TDZ, Kinetin และ Mannitol ที่ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่

กรรมวิธี	จำนวนหัว (หัว)	น้ำหนักหัว (กรัม)	ขนาดหัว (มม.)		น้ำหนักต้น (กรัม)	
			กว้าง	ยาว	ก่อนอบ	หลังอบ
MS (Control)	7.13 ab	0.56 ab	4.94 a	4.75 a	0.91 c	0.14 bc
MS + BAP	7.38 a	0.68 a	5.27 a	5.20 a	1.44 a	0.19 a
MS + TDZ	6.06 b	0.63 ab	5.28 a	5.21 a	1.03 bc	0.12 c
MS + K	6.75 ab	0.54 b	4.83 a	4.85 a	1.23 ab	0.16 ab
MS + M	6.50 ab	0.58 ab	4.92 a	4.96 a	1.04 bc	0.15 abc
MS + C	4.50 c	0.18 c	3.48 b	3.59 b	1.26 ab	0.14 bc
CV	11.02	15.15	7.45	6.79	17.31	14.85

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิธี DMRT

BAP = 6-benzylaminopurine, TDZ = Thidiazuron, K = Kinetin, M = Mannital, C = Coconut

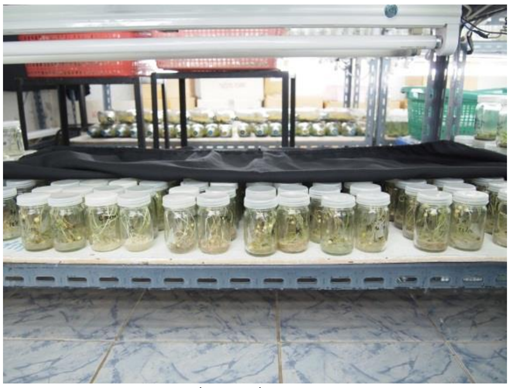


(ก) การผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งขนาดเล็ก (microtubers) จากต้นอ่อนมันฝรั่งด้วยอาหารแข็งสูตร MS ร่วมกับฮอร์โมนต่างๆ

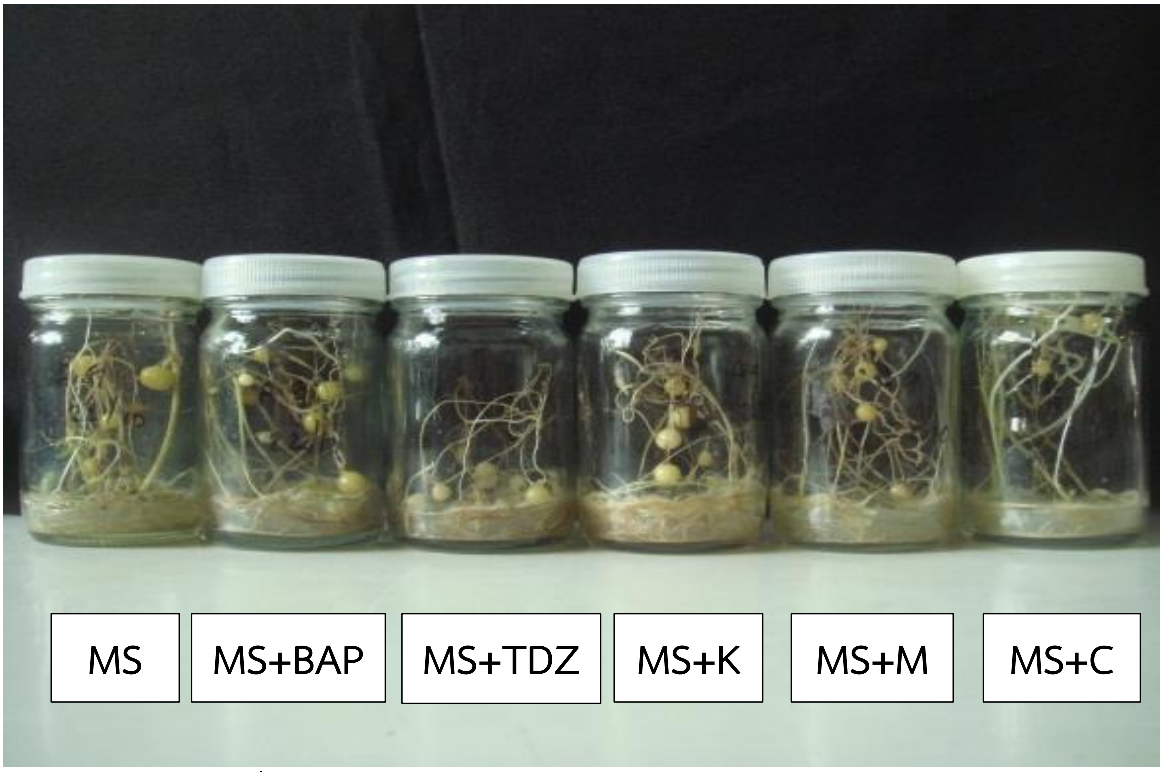
(ข) ต้นอ่อนหลัง subculture 1 วัน

(ค) ต้นอ่อนหลัง subculture 4 สัปดาห์

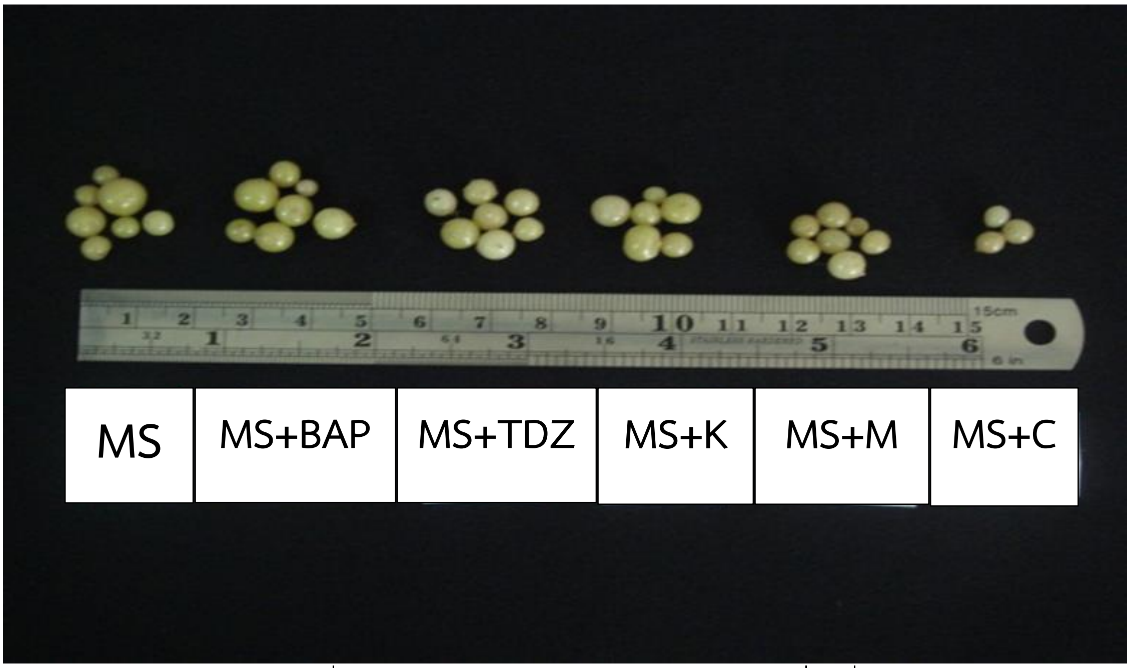
(ง) เก็บไว้ในที่มืดเมื่ออายุ 5 สัปดาห์



(จ)เก็บไว้ในที่มืดเมื่ออายุ 14 สัปดาห์



(ฉ) ขนาดหัวพันธุ์มันฝรั่งขนาดเล็กในแต่ละกรรมวิธี ในอาหารสูตร MS (Control), MS+BAP, MS+TDZ, MS+K, MS+M, MS+C เมื่ออายุ 14 สัปดาห์



(ช) เปรียบเทียบหัวพันธุ์มันฝรั่งขนาดเล็กในแต่ละกรรมวิธี ภายหลังเก็บเกี่ยวที่อายุ 14 สัปดาห์

ภาพที่ 7 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันฝรั่งด้วยอาหารแข็ง MS ร่วมกับร่วมกับสารเร่งการเจริญเติบโต BAP, TDZ, Kinetin และ Mannitol เมื่ออายุ 4-14 สัปดาห์ (ก-ช)

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การเพาะเลี้ยงต้นอ่อนมันฝรั่งโดยใช้อาหารเหลว สูตร MS+BAP ในระบบไบโอรีแอคเตอร์ สามารถกระตุ้นการเจริญของต้นอ่อนมันฝรั่งได้ดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่นๆในช่วง 4 สัปดาห์แรก แต่หลังจากสัปดาห์ที่ 7 ต้นมันฝรั่งไม่สามารถชักนำให้เกิดหัวขนาดเล็กได้ในทุกกรรมวิธี เนื่องจากสภาพต้นทรุดโทรม และมีการเกิดการปนเปื้อนของเชื้อราในอาหารเหลว อาจเนื่องมาจากฝาปิดขวดอาหารเป็นแบบเกลียว จึงทำให้อากาศสามารถเข้าได้ถึงแม้จะมีพาราฟินปิดไว้ก็ตาม

ส่วนการเพาะเลี้ยงต้นอ่อนมันฝรั่งโดยใช้อาหารแข็งสูตร MS+BAP ให้จำนวนหัวเฉลี่ย 7.38 หัว น้ำหนักหัวมันฝรั่งเฉลี่ย 0.68 กรัม และน้ำหนักต้นมันฝรั่งก่อนอบ-หลังอบดีที่สุด คือ 1.44 และ 0.19 กรัม ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารแข็งสูตรอื่นๆ

การนำผลงานไปใช้ประโยชน์

1. ได้วิธีการขยายต้นอ่อนปลอดเชื้อให้ได้จำนวนมาก และรวดเร็ว ในระบบไบโอรีแอคเตอร์แบบจมชั่วคราว และได้ฮอร์โมนในการเพิ่มหัวพันธุ์มันฝรั่งขนาดเล็กปลอดเชื้อ เพื่อนำไปผลิตเป็น G0 ต่อไป

2. นำเทคโนโลยีที่ได้ไปถ่ายทอดสู่เกษตรกรหัวก้าวหน้า, สหกรณ์ผู้ปลูกมันฝรั่ง, บริษัทผู้ประกอบการแปรรูปมันฝรั่ง, นักวิชาการส่งเสริมการเกษตร, นักเรียน, นักศึกษา และผู้สนใจในการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่ง

คำขอบคุณ

งานวิจัยอิทธิพลของสารเร่งการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มปริมาณของหัวพันธุ์มันฝรั่งขนาดเล็กสำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือของ ดร.กฤษณ์ ลินวัฒนา ที่ให้คำปรึกษาในการดำเนินงานวิจัยดังกล่าว นอกจากนี้ต้องขอขอบคุณ คุณอนันต์ ปัญญาเพิ่ม หัวหน้าฝ่ายงานบริหารทั่วไป ที่อำนวยความสะดวกในการดำเนินงานวิจัย รวมทั้งทีมงานวิจัยและเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องของ ศกล.ชม ที่ช่วยปฏิบัติงานวิจัยดังกล่าวจนสำเร็จลงได้ด้วยดี

บรรณานุกรม

เทิดศักดิ์ โทณลักษณ์. 2555. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเสี้ยวดอกขาว (*Bauhinia variegata* L.). รายงานวิจัย สาขาวิชาเทคโนโลยี และพัฒนาการเกษตร. คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่. 36 หน้า.

ธนกิจ แก่นเกษ, นพมณี โทปุญญานนท์ และ จาตุพงศ์ วาฤทธิ์. 2555. การออกแบบและการปรับปรุงห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อรองรับระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดใหญ่. การประชุมวชิ าการสมาคมวิศวกรรมเกษตรแห่งประเทศไทย ครั้ง ที่ 13 วันที่ 4-5 เมษายน 2555 จังหวัดเชียงใหม่. 761-767.

รัฐบาลไทย. 2555. ครม.ไฟเขียวเปิดตลาดหอมหัวใหญ่ มันฝรั่ง 3 ปี ตามข้อผูกพัน WTO เกษตรฯ ศึกษาผลกระทบยันไม่กระทบเกษตรกรผู้ผลิตในประเทศ กลับส่งผลดีต่ออุตสาหกรรมอาหารของประเทศ. สำนักเลขาธิการนายกรัฐมนตรี ทำเนียบรัฐบาล. เข้าถึงได้จากเว็บไซต์: http://www.thaigov.go.th/th/news-ministry/2012-08-15-09-40-18. วันที่ 14 กุมภาพันธ์ 2556.

ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่. 2556. โครงการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งเพื่อทดแทนการนำเข้า เสนอเพื่อขอสนับสนุนงบประมาณจากกองทุนปรับโครงสร้างการผลิต (FTA). สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร. 25 หน้า.

สนอง จรินทร, วิวัฒน์ ภาณุอำไพ, สมพงษ์ คูตระกูล และมานพ หาญเทวี. 2551. การทดสอบพันธุ์มันฝรั่งแปรรูปในการปลูกฤดูฝน. หน้า 272-285. ในรายงานผลงานวิจัยประจำปี 2543-2550 ศูนย์วิจัยเกษตรกลวงเชียงใหม่ กรมวิชาการเกษตร. 300 น.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2555. รายงานพื้นที่เพาะปลูก ผลผลิต ผลผลิตต่อไร่มันฝรั่ง ปี 2550-2554. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. เข้าถึงได้จาก เว็บไซต์: http://www.oae.go.th/oae_report/ export_import/ export.php. วันที่ 7 ธันวาคม 2555.

อรทัย วงค์เมธา. 2557. ยกร่างแผนยุทธศาสตร์งานวิจัยและพัฒนามันฝรั่ง ปี พ.ศ. 2559-2563. ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร. 17 หน้า.

Akita, M. and Y. Ohta. 2002. A Simple Bioreactor System for Production of Storage Organs of Chlnese Yam (*Dioscorea opposita* Thumb.). Plant Biotechnology 19: 353-356.

Piao, X.C., D. Chakrabarty, E.J. Hahn and K.Y. Paek. 2003. A simple method for mass production of potato microtubers using a bioreactor systemCurrent Science 84: 1129-1132.

Wonganu, B. 2550. Callus Induction of Beet Root for Speed up Economical Plant Production. วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ 17: 21-26.