14666

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชา เทคนิลยีการผลิตพืช

เรื่อง

การขยายพันธ์สับปะรด (Ananas comosus (L.) Merr.) โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื้อ

(Propagation of Pineapple (Ananas comosus (L.) Merr. by Tissue Culture)

โดย

นาย ณรงค์ จิตรารัชต์

นางสาว อุมาพร แก้วทอง

.....

อาจารย์ วิชัย ลิ้มกาญจนพงศ์ ประธานกรรมการอาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

T099969

.....

(ดร.ปัญญา โพธิฐิติรัตน์)

หัวหน้าภาควิชาเทคนิลยีการผลิตพืช

วันที่...9..เดือน..ก.ค.....พ.ศ..38...

ปพ.
ณ2117
2538

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....99969
วัน,เดือน,ปี.....17 JUN 2009

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์วิชัย ลิ้มกาญจนพงศ์ ประธานกรรมการที่ปรึกษาที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ ช่วยเหลือแก้ไขปัญหาและอุปสรรคต่าง ๆ ในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ ขอขอบพระคุณ บริษัท อาหารสยาม ที่เอื้อเฟื้อพันธุ์สับปะรดเพื่อใช้ในการศึกษา และเพื่อน ๆ ที่คอยช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดมา จนปัญหาพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่กรุณาให้กำลังใจและทุนทรัพย์ในการศึกษาเป็นอย่างดียิ่งตลอดมา

ณรงค์ จิตรารัชต์

อุมาพร แก้วทอง

เมษายน 2538

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	ก
บทคัดย่อ	ข
วัตถุประสงค์	ค
ตรวจเอกสาร	1
อุปกรณ์และวิธีการ	9
วิธีการ	10
คำแนะนำ	12
ผลการทดลองและวิจารณ์	14
สรุป	23
เอกสารอ้างอิง	29
ภาคผนวก	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงผลการทดลองการทำตายอด สับปะรดจากจุกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร เลี้ยงในอาหารเหลวและอาหารแข็งสูตรต่าง ๆ 6 สูตร เป็นเวลา 2 เดือน	14
2	แสดงการเปรียบเทียบผลการเจริญ และการพัฒนาของต้นอ่อนที่ผ่าต้นแล้ว ในสภาพอาหารแข็ง และอาหารเหลว ในอาหารสูตรต่าง ๆ ทั้ง 6 สูตร เป็นเวลา 2 เดือน	17
3	แสดงผลการศึกษาสภาพของอาหารเหลว 6 สูตร เพื่อทำการเปรียบเทียบ สูตรอาหารที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนต้นแขนงของสับปะรดประดับ โดยทำ การทดสอบเป็นเวลา 2 เดือน	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงลักษณะการเจริญ และการพัฒนาของตายอด (จุก) ที่เลี้ยงในสภาพอาหารแข็งสูตรต่าง ๆ ทั้ง 6 สูตร นาน 2 เดือน	24
2	แสดงลักษณะการเจริญ และพัฒนาของตายอด (จุก) ในสภาพอาหารเหลวสูตรต่าง ๆ นาน 2 เดือน	25
3	แสดงการเจริญเติบโต และการพัฒนาของต้นอ่อนที่พัฒนาจากตายอด (จุก) เพื่อทำการผ่าครึ่งและเลี้ยงในอาหารแข็ง สูตรต่าง ๆ นาน 2 เดือน	26
4	แสดงลักษณะการเจริญ และการพัฒนาของต้นอ่อนที่พัฒนาจากตายอด (จุก) เมื่อทำการผ่าครึ่งต้น และเลี้ยงในสภาพอาหารเหลว นาน 2 เดือน	27
5	แสดงลักษณะการเจริญ และการพัฒนาของ Explants (สับปะรดสี) ที่เลี้ยงในสภาพอาหารเหลว สูตรต่าง ๆ 6 สูตร นาน 2 เดือน	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ประเทศที่ผลิตสับปะรดได้มากที่สุดในโลกขณะนี้ คือ ประเทศไทยโดยสามารถผลิตได้ประมาณปีละ 2 ล้านตัน คิดเป็นร้อยละ 19.32 ของผลผลิตของโลก รองลงมาได้แก่ ประเทศฟิลิปปินส์ ซึ่งผลิตได้ประมาณปีละ 1.2 ล้านตัน คิดเป็นร้อยละ 12.12 ของผลผลิตสับปะรดของโลก การผลิตสับปะรดของไทยได้ขยายตัวอย่างรวดเร็ว และสามารถผลิตได้เป็นอันดับหนึ่งของโลก ในปี พ.ศ. 2531 มีเนื้อที่เก็บเกี่ยวทั้งประเทศ 444,000 ไร่ และเพิ่มขึ้นเป็น 556,000 ไร่ ในปี พ.ศ. 2535 ถ้าหากว่าสถานการณ์ด้านราคาของผลผลิตสับปะรดดี คาดว่าจะมีพื้นที่ปลูกสับปะรดเพิ่มขึ้นในอัตราร้อยละ 4.86 (ดังนั้นในปี พ.ศ. 2538) จะมีพื้นที่ปลูกสับปะรดราว 693,000 ไร่ โดยที่อัตราเฉลี่ยการปลูกสับปะรดประมาณ 8,000 ต้น/ไร่ เมื่อคิดเป็นต้นพันธุ์ที่นำมาปลูกจะเท่ากับห้าพันห้าร้อยล้านต้น (นิรนาม , 2537)

คุณภาพของสับปะรด ที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมสับปะรดกระป๋องในปัจจุบันนี้ พบว่ามีคุณภาพดีพอสมควร แต่ในอนาคตจะมีการแข่งขันกันมากขึ้น จึงทำให้ผู้ผลิตต้องมีการพัฒนาคุณภาพสับปะรดให้ดีมากกว่าในปัจจุบัน ดังนั้นจึงมีผู้นำสับปะรดพันธุ์ดีเข้ามาจากต่างประเทศ และยังมีการคัดเลือกสายพันธุ์ดีรวมทั้งยังมีการผสมพันธุ์สับปะรดเพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่มีคุณภาพดี (สกาวเดือน, 2533) เมื่อได้พันธุ์ที่ดีตามต้องการแล้ว จะเห็นได้ว่าต้องใช้ต้นพันธุ์สับปะรดจำนวนมาก ถ้าหากใช้วิธีการขยายพันธุ์แบบแยกหน่อคงไม่เพียงพอ ดังนั้นแนวโน้มการขยายพันธุ์สับปะรดจึงมุ่งไปที่การใช้วิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพราะจะให้ต้นพันธุ์เป็นจำนวนมากภายในระยะเวลาสั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

การขยายพันธ์สับปะรดด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (Tissue culture) ในสภาพอาหารแข็ง จะมีการพัฒนาจากตายอด (จุก) เจริญเป็นต้นอ่อนได้ดีกว่าการเลี้ยงในสภาพอาหารเหลว เมื่อเพิ่มจำนวนต้นแขนง (ในสับปะรดสี) ควรเลี้ยงในอาหารเหลวจะตอบสนองได้ดีกว่าในสภาพอาหารแข็ง และในสภาพอาหารเหลวทุกสูตรสามารถเพิ่มจำนวนต้นได้ทุกสูตร โดยที่อาหารสูตร MS+BA 1 mg/l จะให้จำนวนต้นมากที่สุด ในระยะเวลา 2 เดือน สำหรับอีกแนวทางหนึ่งในการเพิ่มจำนวนต้นแขนงให้เร็วขึ้นอีกด้วย การผ่าต้นที่มีขนาด 1 นิ้วขึ้นไป แล้วเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS+BA 1 mg/l จะให้ผลที่ดีที่สุดเช่นกัน ในระยะเวลา 2 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาถึงสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรด เพื่อชักนำให้เกิดการเจริญและพัฒนาเป็นต้นแขนง

2. ศึกษาถึงสภาพอาหารที่เหมาะสมสำหรับการพัฒนาของตายอดเป็นต้นอ่อนต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

สับปะรด (*Ananas comosus* (L.) Merr)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

Class Monocotyledoneae

Order Commeliales

Family Bromeliaceae

Genus Ananas

Species Comosus

แหล่งกำเนิด

มีรายงานว่า พบครั้งแรกในทวีปอเมริกาใต้ ในราว พ.ศ. 2043-2142 จากการสำรวจของชาวสเปนได้นำสับปะรดไปปลูกไว้หลายแห่งด้วยกันและแพร่หลายไปยังฮาวาย ในปลายปี พ.ศ. 2343-2446 มีการปลูกในเรือนกระจกในยุโรปและที่หมู่เกาะอะซอร์ส คาเยนน์ ทำให้เกิดอุตสาหกรรมนำออกสับปะรดที่หมู่เกาะฮาวาย ส่วนใหญ่พืชในวงศ์นี้พบตามสภาพธรรมชาติของแถบโซนร้อนและกึ่งร้อนของทวีปอเมริกา เช่น มอสสเปน เราอาจแบ่งสับปะรดออกจากพืชสกุลอื่น ๆ ได้โดยถือเอาลักษณะของผลซึ่งเป็นแบบ Syncarpous type (ผลประด้วย Carpel เชื่อมกัน) เป็นลักษณะที่ไม่พบในพืชสกุลอื่น ๆ (จารุพันธ์, 2526)

สับปะรดที่ปลูกเป็นการค้าทั่วโลก แบ่งเป็น 5 กลุ่มใหญ่ ๆ ได้แก่ กลุ่ม Cayenne กลุ่ม Queen กลุ่ม Spanish กลุ่ม Abacaris และกลุ่ม Maipure (จารุพันธ์, 2526)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคของสับปะรด (ศิริพร, 2534)

1. ราก (Root) รากของสับปะรดมี 2 ชนิด คือ

1.1 รากที่เกิดจากลำต้นใต้ดิน ทำหน้าที่ ดูดน้ำ และธาตุอาหารช่วยยึดลำต้น

1.2 รากเหนือดิน เกิดอยู่ตามลำต้น ในกาบใบ ทำหน้าที่ดูดน้ำ และธาตุอาหารจากกาบใบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. หน่อดิน (Undergroud sucker) เป็นหน่อที่เกิดจากตาของลำต้นที่อยู่ใต้ผิวดิน มีจำนวนไม่มาก รูปร่างเรียว ใบค่อนข้างยาว
3. หน่อข้าง (Aerial sucker) เกิดจากตาที่อยู่บนลำต้น มีต้นละ 2-3 หน่อ ใช้เป็นเครื่องปลูกมากที่สุด กินเวลา 14-16 เดือน จึงได้ผล
4. หน่ออุ้มลูก (Hapas) เป็นหน่อที่เกิดจากตาที่บริเวณจุดของก้านผลต่อกับลำต้น ปกติมี 1-2 หน่อ ใช้ขยายพันธุ์ได้
5. ตะเกียง (Slips) เป็นหน่อที่เกิดจากตาบนก้านผล จำนวนเท่าไรแล้วแต่พันธุ์ และความสมบูรณ์ของต้น ปลูกใช้เวลา 18-20 เดือน สับปะรดปัตตาเวียในบ้านเราจะไม่สร้างตะเกียงและมีหน่อที่เกิดที่โคนผลติดกับก้านผลเรียกว่า หน่อตะเกียง
6. ตะเกียงก้นผล (Collar of slip) บางพันธุ์ของสับปะรดจะมีตะเกียงหรือ หน่อเกิดมาจากบริเวณก้นผลที่เรียกว่า ตะเกียงก้นผล เมื่อเก็บผลและเด็ดดอกจะทำให้เกิดรอยแผลเป็นลักษณะที่ไม่ดี ไม่พบในสับปะรดปัตตาเวีย
7. ใบ (Leaf) มีลักษณะแคบ เรียวยาว ขอบเรียบ หรือมีหนามมากแล้วแต่พันธุ์ ตรงกลางมักเป็นร่อง เพื่อเป็นทางน้ำไปเก็บไว้ที่ภายใน ใต้ใบมักจะมีเกล็ด (Trichome) เห็นเป็นสีขาวเงินเหลือบ มีหน้าที่ดูดน้ำ ในใบมีเนื้อสำหรับเก็บน้ำไว้ใช้ในเวลาแล้ง มีจำนวน 50-100 ใบต่อต้น ความยาวของใบเมื่อนำมาเรียงกันจะมีลักษณะเป็นรูปตัว D จึงเรียกว่า D-leaf
8. ก้านผล (Frui stalk) เป็นแท่งทรงกระบอกตรง ยาว มีหน้าที่พยุงผลให้ชูขึ้นรับแดดและเชื่อมผลกับลำต้น มีหน้าที่ลำเลียงน้ำ อาหารไปให้ผล มีตาที่พักตัวอยู่ซึ่งจะแตกออกเป็นตะเกียงหรือหน่อตะเกียง
9. ใบประดับ (Hypophyll)มีขนาดไม่ยาวนัก อยู่ที่บริเวณด้านใต้ของผลที่ด้านบนของก้านผล มักมีสีแดง หรือเหลือง มีจำนวนไม่มาก
10. ผล (Fruit) เป็นผลรวมประกอบด้วยผลย่อย 100-200 ผล แล้วแต่ความสมบูรณ์ของสับปะรด เชื่อมติดกันกับแกนกลางของช่อดอก
11. จุก (Crown) เป็นส่วนของใบที่ขึ้นเป็นกระจุก อยู่ที่ปลายยอด ของผลสับปะรดใช้ขยายพันธุ์ได้ ใช้แบ่งแยกสับปะรดออกจากสกุลอื่น ตามปกติมักจะมีลูกเดียว ถ้าใช้ปลูกจะกินเวลา 22-24 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12. จุกตะเกียง (Crown slips หรือ Crownlets) เป็นหน่อที่แตกมาจากบริเวณโคนจุกต่อกับผลมีในสับปะรดบางพันธุ์เท่านั้น

13. ดอก (Flowers) ประกอบด้วย กาบรองดอก กลีบดอก 3 กลีบ กลีบรองดอก 3 กลีบเกสรตัวผู้ 6 อัน แบ่งเป็น 2 วง ยอดเกสรตัวเมีย 3 แฉก รังไข่มี 3 ช่อง เป็นแบบอยู่ใต้ส่วนดอก แต่ละช่องเชื่อมกันโดยมีช่องหนากั้นเป็นรูปตัววายหัวกลับ ก้านเกสรตัวเมียยาวกว่าเกสรตัวผู้เล็กน้อย แต่จะสั้นกว่ากลีบดอก ฐานกลีบดอกมีสีขาวและปลายสีม่วงอมน้ำเงิน ยาว 106 เซนติเมตร กว้าง 5 มิลลิเมตร กลีบดอกมีช่องเปิดเล็กน้อย ซึ่งแมลงเล็ก ๆ ลอดเข้าไปได้

สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย (Smooth Cayenne; Sarawak; Kew) นับเป็นพันธุ์เดียวที่ปลูกกันเพื่อส่งโรงงานอุตสาหกรรมสับปะรดกระป๋อง สับปะรดนี้มีใบสีเขียวเข้ม ผิวใบด้านบนเป็นมัน ขอบใบเรียบ กลางใบมีสีแดงอมน้ำตาล ปลายใบมีหนามเล็กน้อยหรืออาจมีหนามที่ขอบใบด้วย ช่อดอกมีดอกย่อย โดยเฉลี่ยประมาณ 150 ดอก กลีบดอกมีสีม่วงอมน้ำเงิน ผลมีขนาดและรูปทรงแตกต่างกันไป น่าสังเกตว่าหากผลมีขนาดใหญ่มากจะมีรูปทรงโคลนใหญ่ปลายเรียว แต่หากเป็นผลเล็กก็มักมีทรงกลมป้อมหรืออาจเป็นทรงกระบอก เปลือกผลสีเขียวปนดำเมื่อแก่ หรืออาจมีสีเหลืองอมส้มเมื่อแก่จัด ตาตื้น เนื้อในของผลสีเหลืองอ่อน หรือเหลืองเข้มในฤดูร้อน (สกาวเดือน, 2533)

สับปะรดสีหรือสับปะรดประดับ เป็นพืชที่จัดอยู่ในวงศ์สับปะรด (Bromeliaceae) มีประมาณ 60 สกุล และมากกว่า 2,000 ชนิด เป็นพืชล้มลุกเนื้ออ่อน จัดอยู่ในประเภทพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ดอกประกอบด้วยดอกที่มีส่วนประกอบเป็นสาม หรือ ผลคูณของสาม มีเกล็ดสำหรับดูดน้ำ อยู่ที่ใบอันเป็นเอกลักษณ์ของพืชพวกนี้ (ศิริพร, 2534)

สับปะรดสีหรือสับปะรดประดับที่สำคัญในแง่ไม้ประดับนั้นอยู่ที่กลุ่มพวกไม้เหนือดิน (Epiphytes) เป็นพืชที่เจริญเติบโตโดยมีรากยึดเกาะอยู่กับกิ่งหรือลำต้นหรือตามคาคบไม้ใหญ่ที่มีความชุ่มชื้นสูง โดยที่รากดูดแร่ธาตุอาหารที่สลายตัวอยู่ตามผิวเปลือกไม้ ใบไม้ผุ ๆ ลำต้นมีรูปทรงและสีสันสะดุดตางามมาก ใช้เป็นไม้ประดับที่กำลังนิยมกันมากในปัจจุบันนี้ ซึ่งพันธุ์ไม้ในกลุ่มนี้มีอยู่ประมาณ 20 สกุล ที่เด่น ๆ เช่น Billbergia, Aechmea, Vriesia, Nidularium, Pitcairnia, Puya, Guzmania, Tillandsia, Dyckia, Cryptanthus, Nidularium, Abromeitiella, Androlepsis *(ศิริพร, 2534)*

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ห้ามนำไปใช้เพื่อการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การขยายพันธุ์สับปะรด (ศิริพร, 2534)

การใช้ส่วนต่าง ๆ ของต้นสับปะรดไปขยายพันธุ์

1. ขยายพันธุ์ด้วยจุก จะเติบโตอยู่บนผล หลังจากดอกโรยไปแล้ว ในการนำไปขยายพันธุ์ทำโดยตัดจุกพวกนี้ไปปักชำ ก่อนปักชำให้ทาแผลที่จุกด้วยยากันราก่อน
2. ขยายพันธุ์ด้วยตะเกียง เป็นส่วนที่เกิดจากตาบนก้านผลเจริญเติบโตขึ้นมา แล้วนำไปปักชำให้ผลเมื่ออายุ 20 เดือน
3. ขยายพันธุ์ด้วยหน่อข้าง เป็นหน่อที่เกิดจากตาบนลำต้น สามารถนำไปปักชำได้ซึ่งให้ผลเมื่ออายุ 14-18 เดือน
4. ขยายพันธุ์ด้วยหน่ออุ้มลูก หน่อนี้เกิดที่ตาในบริเวณรอยต่อระหว่างก้านผลกับลำต้น นำไปขยายพันธุ์โดยการปักชำ
5. ขยายพันธุ์ด้วยหน่อดิน เป็นหน่อที่เกิดจากตาบนลำต้นที่อยู่ใต้ผิวดินลงไป นำไปขยายพันธุ์ด้วยการปักชำ

วิธีข้างต้นจะได้ประมาณที่น้อยมากไม่เพียงพอต่อความต้องการ ฉะนั้นจึงมีผู้คิดค้นวิธีขยายพันธุ์ที่ได้ผลคราวละมาก ๆ วิธีดังกล่าวมีดังนี้ คือ

1. การขยายพันธุ์โดยวิธีแบ่งจุก ทำได้โดยใช้มีดคม ๆ ผ่าจุกเป็นส่วนแล้วจัดทำการปักชำ
2. การขยายพันธุ์โดยวิธีตัดแบ่งลำต้นออกเป็นชิ้น ๆ
3. วิธีการเพาะเมล็ด นิยมในกลุ่มนักผสมพันธุ์เพื่อให้ได้สายพันธุ์ใหม่ ๆ
4. วิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นวิธีที่ให้ต้นอ่อนปริมาณมากในระยะเวลาอันสั้น

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หมายถึง เทคนิคการนำชิ้นส่วนของพืชไปเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ในสภาพปลอดเชื้อ และมีการควบคุมสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช

จุดมุ่งหมายของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมี 3 ข้อ

1. พืชนั้นปราศจากโรค แมลงในการเข้าทำลาย
2. มีการเพิ่มปริมาณอย่างมากและรวดเร็ว
3. มีการกลายพันธุ์เพื่อได้พันธุ์ใหม่ที่มีความหลากหลายของพันธุ์เพิ่มมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชิ้นส่วนเริ่มต้น (Explsnts)

ชิ้นส่วนเริ่มต้น ในการขยายพันธุ์สับปะรดโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนี้ (Aghion Beauchesne, 1960) ได้ใช้ตาข้างที่ได้จากจุกของสับปะรด พบว่าเกิด plantets จำนวนเล็กน้อย ใช้ตายอดของจุกในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าสามารถได้ต้นแขนงตายอดเหล่านี้ โดยต้นแขนง 1 ต้น จากตายอดแต่ละตาเท่านั้น (Jones และ Murashige, 1974) ได้รายงานถึงการเลี้ยงเนื้อเยื่อ Bromeliaceae ชนิดหนึ่ง คือ Aechmea Jasciata Baker และสับปะรดอื่นๆ โดยเริ่มต้นจากการตัดเอาตาข้างที่โคนลำต้นแม่มาเลี้ยง ในอาหารสังเคราะห์ และพบว่าประสบความสำเร็จดี

สำหรับในประเทศไทยนั้น (สะอาด, 2525) ได้ใช้ส่วนตาข้างที่ได้จากจุกของสับปะรดแคระ *(Ananas nanas)* มาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ พบว่า ประสบผลสำเร็จ คือ ได้ต้นพืชเพิ่มขึ้นจำนวนมาก ในเวลาอันสั้นเช่นเดียวกัน อาจกล่าวได้ว่า การขยายพันธุ์สับปะรดโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนี้สามารถได้ต้นพืชจำนวนน้อยที่สุด 5,000 ต้น จากจุกเริ่มต้นเพียง 1 จุกภายในเวลา 12 เดือน (Zepeda และ Sagawa, 1981) หรืออาจจะเป็นไปได้ที่สามารถผลิตได้ถึง 2 ล้านต้น จากตาเริ่มต้นเพียง 1 ตา ภายในเวลา 2 ปี (Pannetier และ Lanaud, 1976)

วิธีการเตรียมชิ้นส่วนของพืช

1. **หน่อ** ขนาดที่ลอกใบออกหมดแล้วมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2.5-3 เซนติเมตร สูงประมาณ 3-4 เซนติเมตร นำมาทำความสะอาดแล้วฆ่าเชื้อด้วยน้ำยา Clorox ในความเข้มข้น 10 % นาน 10 นาที แล้วนำเข้าตู้เขี่ยเชื้อล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งสะอาด 3/4 เซนติเมตร (พิศมัย, 2522)

2. **จุก** นำมาจากส่วนที่อยู่เหนือช่อดอกขนาดเมื่อลอกกาบใบออกหมดแล้วสูงประมาณ 1.5 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.5 เซนติเมตร ทำความสะอาดเช่นเดียวกับหน่อ (พิศมัย, 2522)

3. **ตาข้าง** นำมาจากส่วนของหน่อที่ตัดมาจากตายอดลงมาตัดเป็นชิ้นสามเหลี่ยมขนาด 0.5 เซนติเมตร แล้วทำความสะอาดเช่นเดียวกันกับหน่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทำความสะอาดชิ้นส่วนของพืช

นำตาข้างจุกสับประรดทำความสะอาดโดยใช้ clorox 10 % แช่นาน 10 นาที แล้วย้ายลงใน clorox 1 % เวลานาน 30 นาที พบว่าให้ผลดี และใช้สารช่วยให้น้ำยาสัมผัสชิ้นส่วน (Wetting agent) เช่น Teepol สารฆ่าเชื้อบริเวณผิวของเนื้อเยื่อ (Sterllizing agent) เช่น Teepol หรือ Tween 20 นั้นเพื่อช่วยให้พื้นผิวของชิ้นส่วนพืชสัมผัสกับน้ำยาฆ่าเชื้อได้ดียิ่งขึ้น มีผลทำให้การทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับชิ้นส่วนพืชได้ผลดียิ่งขึ้น (สะอาด, 2525)

อาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อและสภาพของอาหาร (ประศาสตร์, 2536)

อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จะประกอบด้วยธาตุอาหารต่าง ๆ ที่พืชต้องการอย่างครบถ้วน ซึ่งเป็นสารประกอบที่สามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อย ๆ ได้ดังนี้

1. **ธาตุอาหารพวกอนินทรีย์** (Inorganic compound) ประกอบด้วยธาตุอาหารต่าง ๆ ดังนี้

1.1 ธาตุอาหารที่พืชต้องการใช้ในปริมาณมาก (Macro-nutrient) ได้แก่ C, H, N, O, P, K, S, Ca และ Mg

1.2 ธาตุอาหารที่พืชต้องการใช้ในปริมาณน้อย (Micro-nutrient) ได้แก่ Fe, Cl, Mn, Cu, Zn, B และ Mo

2. **ธาตุอาหารพวกอินทรีย์** (Organic compound)

2.1 พวกวิตามิน (Vitamin) เช่น thaimine, nicotinic acid pyridoxine เป็นต้น

2.2 ฮอร์โมนพืชและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (Plant hormones and Plat growth regulators) ได้แก่ สารในกลุ่มพวกออกซิน (Auxin) เช่น Indole butyric acid เป็นต้น สารพวกไซโตคินิน (Cytokinin) เช่น kinethin และ zeatin เป็นต้น สารควบคุมการเจริญเติบโตอื่น ๆ เช่น gibberellic เป็นต้น

2.3 สารที่เป็นแหล่งคาร์บอน (Carbon source) ได้แก่ สารประกอบพวก น้ำตาลต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 พวกกรดอะมิโน (Amino acid) ได้แก่ glutamine และ glycine cascin hydrolysate เป็นต้น

2.5 สารประกอบอินทรีย์อื่นๆ ซึ่งส่วนใหญ่ได้จากธรรมชาติ เช่น น้ำต้มมันฝรั่ง น้ำมะพร้าว หรือสารสกัดจากยีสต์เป็นต้น

ถึงแม้ว่าพืชทุกชนิดต้องการธาตุอาหารหลักที่เหมือนกันแต่จะต้องการในความเข้มข้นต่างกัน ฉะนั้นในการที่จะเลือกอาหารเพื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้น ผู้ทำต้องคำนึงถึงเหตุผลด้วย

ขั้นตอนต่าง ๆ ในการขยายพันธุ์สับปะรดโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ (Mapes, 1973) และ (Teo, 1975) มีขั้นตอนดังนี้ คือ

1. เลี้ยงชิ้นส่วนเริ่มต้นให้เกิดการมีชีวิตในอาหารแข็ง (Teo, 1975) หรืออาหารเหลว (Mapes, 1973)
2. มีการเพิ่มจำนวนของ Callus
3. ชักนำให้เกิดการพัฒนาและเพิ่มจำนวนของ Plantlets
4. ชักนำให้เกิดรากเป็นต้นสมบูรณ์ย้ายออกปลูกได้

การเจริญของชิ้นส่วนพืชหลังจากนำไปเลี้ยงอาหารสังเคราะห์

อรดี (2522) ได้กล่าวว่า ลักษณะการเจริญของชิ้นส่วนพืช หลังจากที่ได้นำไปเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์สามารถเจริญเป็นต้น ที่มีรากโดยตรงหรือบางทีมีดอกเรียกว่าเกิด "Organogenesis"

(Teo, 1975) ได้กล่าวถึงประโยชน์ในการขยายพันธุ์สับปะรดโดยวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อดังนี้

1. การขยายพันธุ์สับปะรดโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถทำในห้องปฏิบัติการและได้ต้นสับปะรดจำนวนมาก
2. ต้นสับปะรดที่ได้มีคุณภาพแน่นอน คือมีลักษณะเหมือนต้นที่คัดเลือกแล้ว
3. การขยายพันธุ์สับปะรดโดยวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อใช้เพียง 1 หน่อหรือ 1 จุก ก็สามารถได้ต้นพืชถึงล้าน ๆ ต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ต้นสับปะรดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จะใช้พื้นที่ในเรือนเพาะชำในการตั้งตัวน้อยกว่าการผลิตโดยวิธีธรรมดา
5. ต้นที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถนำไปปลูกได้เมื่อนำออกจากเรือนเพาะชำ
6. ประหยัดค่าใช้จ่ายในการขนส่งและสามารถขนส่งได้สะดวกกว่าการขนส่งหน่อธรรมดา
7. มีประโยชน์ในแง่การปรับปรุงพันธุ์สับปะรดโดยเฉพาะในการ hybrid embryo callus ซึ่งเป็นสิ่งที่น่าสนใจ (Wakasa, 1979)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. พืชทดลอง ได้แก่ ต้นสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย ที่ได้จากแปลงปลูกของบริษัทอาหารสยาม และสับปะรดประดับ ที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อ

2. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

2.1 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร สูตร MS (Murashige and Skoog,1962)

2.2 สารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่

- Kinetin (6-Furfurylamino-purin)
- BA (Benzyl adenine purin)

2.3 น้ำตาลทราย

2.4 วุ้นผง

2.5 น้ำกลั่น

3. เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหารประกอบด้วย เครื่องแก้วที่ใช้ในห้องปฏิบัติการซึ่งได้แก่ ปีกเกอร์ บิเปต กระบอกตวง ขวดแก้วสำหรับใส่อาหารพร้อมฝาปิด เครื่องชั่ง pH meter และหม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)

4. สารเคมีที่ใช้ฆ่าเชื้อ ได้แก่ เอทธิลแอลกอฮอล์ คลอรอกซ์ และสารจับใบ (Teepol)

5. เครื่องมือที่ใช้ในการย้ายชิ้นส่วนของพืช ได้แก่ ตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow) และเครื่องมือที่ใช้ในตู้ปลอดเชื้อ ได้แก่ มีด ปากคีบ ตะเกียง และจานแก้ว (petri dish)

6. เครื่องเขย่า (shaker)

7. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่สามารถควบคุมอุณหภูมิ 25°C-28°C ให้แสงจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ 16 ชั่วโมง และไม่ให้แสง 8 ชั่วโมง ควบคุมการปิดเปิดด้วยเครื่องอัตโนมัติ (timer) มีความเข้มแสงประมาณ 3000 ลักซ์

8. อุปกรณ์ถ่ายภาพ กล้อง กระดาษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการ

ในสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย

1. การฟอกฆ่าเชื้อ

1. เตรียมน้ำฟอกฆ่าเชื้อ โดยใช้ clorox 10 % และเติม Teepol 1-2 หยด
2. นำเอาตายอด และตาข้างที่เตรียมไว้แช่ในสารละลาย clorox ที่เตรียมไว้
3. เขย่าเป็นระยะ ๆ หรือวางไว้บนเครื่องเขย่าเป็นเวลาประมาณ 20 นาที
4. ล้างเอาสารละลายออกด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ๆ ละประมาณ 5 นาที
5. ย้ายตัวอย่างไปวางพึ่งบนจานแก้ว (petridish) ให้แห้งพอหมาด ๆ แล้วทำการตัดแต่งพืชตัวอย่าง เพื่อทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อไป

2. การเตรียมอาหารสูตรต่าง ๆ

โดยเตรียมอาหารสูตรต่าง ๆ ทั้งอาหารเหลวและแข็ง ดังนี้คือ

1. สูตร MS
2. สูตร 1/2 MS (ใช้ธาตุอาหารของสูตร MS เพียงครึ่งหนึ่ง)
3. สูตร MS + BA 1 mg/l
4. สูตร MS + BA 2 mg/l
5. สูตร MS + KI 1 mg/l
6. สูตร Ms + KI 2 mg/l

3. การขยายพันธุ์จากตายอดและตาข้าง

นำตายอดและตาข้างที่ฟอกฆ่าเชื้อแล้ว ขนาดประมาณเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 ซ.ม. ไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ ทั้ง 6 สูตร ข้างต้น ในสภาพอาหารแข็ง และอาหารเหลว ดังนี้

อาหารเหลวทำ 6 replications แบ่งเป็น

- ตายอด (จุก) 3 replications
- ตายอด (หน่อ) 2 replications
- ตาข้าง 1 replication

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารแข็งทำ 3 replications แบ่งเป็น

- ตายอด (จุก) 1 replication
- ตายอด (หน่อ) 1 replication
- ตาข้าง 1 replication

ใน 1 เดือนแรกเปลี่ยนอาหารทุก 3 วัน (ในสภาพอาหารเหลว) เพื่อลดความพิษของสาร phenolic ที่ถูกขับออกมา

4. การเพิ่มจำนวนโดยการผ่าต้น

นำต้นที่ได้จากผลการทดลองข้างต้นมาผ่าครึ่งต้นแล้วเลี้ยงในอาหารสูตรต่าง ๆ ทั้ง 6 สูตร เปรียบเทียบในสภาพอาหารแข็งและอาหารเหลว โดยในอาหารเหลวจะเปลี่ยนอาหารทุก 3 วันใน 2 สัปดาห์แรกหลังจึงเปลี่ยนอาหารทุกสัปดาห์ สังเกตุและจดบันทึกจำนวนต้นแขนง (plantlets) ทุก 2 สัปดาห์

<u>ในสับปะรดประดับ</u>

ใช้ Expants ที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS+Kinetin 1 mg/l โดยใช้ต้นแขนงขนาด 1 เซนติเมตร เลี้ยงในอาหารเหลวสูตรต่าง ๆ ทั้ง 6 สูตรข้างต้น ทำการเปลี่ยนอาหารทุก 2 สัปดาห์ บันทึกผลหลังจากเลี้ยงไปได้ 2 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำแนะนำ

1. ในการลอกกาบใบของสับปะรด ควรคว่ำยอดลงกับพื้นแล้วจึงดึงกาบใบย้อนขึ้นข้างบน เพื่อป้องกันตกหล่นของทรายฝุ่นลงในบริเวณ Apical meristem เนื่องจากเรานำส่วนนี้ไปทำการเพาะเลี้ยง จึงจำเป็นต้องให้สะอาดมากที่สุดและเป็นการลดปัญหาการติดเชื้อในภายหลัง ซึ่งมีผลทำให้การทดลองล้มเหลวได้

2. ในการเตรียมต้นอ่อน จากชิ้นส่วนพืช (ตายอด [หน่อ], ตายอด [จุก], ตาข้าง) ควรนำมาเลี้ยงในอาหารแข็งมากกว่าในอาหารเหลว เพราะจะพบว่าในการเตรียมต้นแม่ถ้าใช้อาหารแข็งเพาะเลี้ยงจะใช้เวลา 6 สัปดาห์ ต้นแม่จะมีขนาดยาวประมาณ 5-8 เซนติเมตร ใบเขียวเข้ม ลำต้นใหญ่ ซึ่งเหมาะสำหรับการนำไปผ่าต้นเพื่อเพิ่มต้นแขนงต่อไป ฉะนั้นในการเตรียมต้นอ่อนในอาหารเหลว ควรใส่อาหารพอสมควร มีผลทำให้ต่อชิ้นส่วนพืชไม่รดนเหวี่ยงจนมากเกินไปและชิ้นส่วนพืชจะเคลื่อนที่น้อยที่สุด

3. ในการเตรียมชิ้นส่วนสับปะรด เพื่อใช้ทดลองไม่ควรตัดกาบใบจนหมด ควรตัดให้เหลือบ้างเล็กน้อยพอประมาณ เพราะจะทำให้ชิ้นส่วนของสับปะรดสามารถเจริญเป็นต้นอ่อนได้เร็วยิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลาและสถานที่ทำการทดลอง

ระยะเวลาในการทดลอง

เริ่มทำการทดลอง วันที่ 30 ตุลาคม 2537

สิ้นสุดการทดลอง วันที่ 1 มีนาคม 2538

รวมเป็นระยะเวลาในการทดลอง 4 เดือน

สถานที่ทดลอง

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชไร่ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย

การขยายพันธุ์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถใช้ส่วนของจุกและหน่อได้ แต่ในการศึกษาครั้งนี้ส่วนใหญ่ใช้ส่วนของจุกมาศึกษา ผลที่แสดงไว้จึงเป็นผลของการขยายพันธุ์จากส่วนของจุกหลังการฟอกฆ่าเชื้อแล้วจะได้ส่วนเนื้อเยื่อเจริญทั้งจากยอดและตาข้าง แต่ในการใช้ส่วนของจุกเนื้อเยื่อเจริญบริเวณตาข้างเล็กมากจึงใช้แต่เนื้อเยื่อเจริญจากตายอดมาศึกษา ซึ่งผลจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแสดงไว้ในตารางที่ 1 ภาพที่ 1 และภาพที่ 2

ตารางที่ 1 แสดงผลการทดลองการนำตายอด สับปะรดจากจุกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 เซนติเมตร เลี้ยงในอาหารเหลวและอาหารแข็งสูตรต่าง ๆ 6 สูตร เป็นเวลา 2 เดือน

สูตรอาหาร	ลักษณะการเจริญและการพัฒนา
อาหารเหลว	
- $1/_2$ MS	ต้นอ่อนมีการเจริญสูงยาวประมาณ 0.5 ซม. ลักษณะไม่ค่อยแข็งแรง กาบใบบริเวณต้นตอยาวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย มีสีเขียวเข้ม
- MS	ต้นอ่อนมีการพัฒนาเพิ่มขึ้นเล็กน้อย มีลักษณะอ่อนแอ กาบใบบริเวณต้นตอยาวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย
- MS+BA 1 mg/l	ต้นอ่อนมีการพัฒนาเพิ่มขึ้นประมาณ 1 ซม. มีการแตกหน่อ 2-3 หน่อ ใบมีสีเขียวเข้มยาวมากขึ้น แต่ลำต้นอ่อนแอ ไม่เหมาะสำหรับหารนำไปผ่าต้น
- MS+BA 2 mg/l	ลำต้นมีการพัฒนาเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่มีการแขนงของตาข้าง 1 หน่อ มีขนาด 1 ซม. ใบมีสีเขียวเข้มลำต้นอ่อนแอ ไม่เหมาะสำหรับการนำไปผ่าต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตรอาหาร	ลักษณะการเจริญและการพัฒนา
- MS+KI 1 mg/1	ลำต้นมีการพัฒนายาวเพิ่มขึ้นประมาณ 0.5 ซม. กาบใบไม่มีการพัฒนายาวเพิ่มขึ้น
- MS+KI 2 mg/1	ลำต้นมีการพัฒนาเพิ่มมากขึ้น มีความยาวประมาณ 0.5 ซม. กาบใบไม่มีการพัฒนายาวเพิ่มขึ้น
อาหารแข็ง	
- $1/2$ MS	มีการพัฒนาเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย กาบใบมีการพัฒนายาวขึ้นเล็กน้อย มีสีเขียวเข้ม
- MS	ลำต้นมีการพัฒนาเพิ่มขึ้นประมาณ 4 ซม. กาบใบมีสีเขียวเข้มลำต้นมีสีเขียวเข้ม ลำต้นมีเส้นผ่าศูนย์กลางยาวประมาณ 1 เซนติเมตร
- MS + BA 1 mg/1	ลำต้นมีการพัฒนาเพิ่มขึ้นประมาณ 5 ซม. กาบใบยาวขึ้นมีสีเขียวเข้ม ลำต้นมีเส้นผ่าศูนย์กลางยาวประมาณ 1 ซม.
- MS + BA 2 mg/1	ลำต้นมีการพัฒนา ยาวเพิ่มขึ้นประมาณ 6.5 ซม. กาบใบยาวขึ้นมีสีเขียวเข้ม ลำต้นมีเส้นผ่าศูนย์กลางยาวประมาณ 1 ซม.
- MS + KI 1 mg/1	ลำต้นมีการพัฒนายาวประมาณ 4 ซม. กาบใบยาวมีสีเขียวเข้ม ลำต้นมีเส้นผ่าศูนย์กลางยาวประมาณ 1 ซม.
- Ms +KI 2 mg/1	ลำต้นมีการพัฒนายาวประมาณ 6 ซม. กาบใบมีสีเขียวเข้ม ลำต้นมีเส้นผ่าศูนย์กลางยาวประมาณ 0.7 ซม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 1 ภาพที่ 1 และภาพที่ 2 พบว่า การเลี้ยงตายอดในสภาพอาหารแข็งและสภาพอาหารเหลวในสูตรอาหารต่าง ๆ 6 สูตร ในสภาพอาหารแข็งตายอดจะมีการพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ดีกว่าในสภาพอาหารเหลว เพราะจากการทดลองเป็นระยะเวลา 2 เดือน พบว่าการเลี้ยงในอาหารแข็งมีการพัฒนาดีกว่าในสภาพอาหารเหลว มีการเจริญเติบโตมากกว่า ลำต้นสูงและมีความแข็งแรงมากกว่าสภาพต้นอ่อนที่เลี้ยงในอาหารเหลว ทั้งนี้เป็นเพราะว่า การเลี้ยงในสภาพอาหารเหลวนั้นจะถูกเครื่องเขย่า ซึ่งจะทำให้ชิ้นส่วนบอบช้ำ จนไม่สามารถที่จะเจริญและพัฒนาได้อย่างรวดเร็ว เมื่อเทียบกับ ในสภาพอาหารแข็งเพราะในอาหารแข็งเซลของตายอดของสับปะรด จะไม่ถูกกระทบกระเทือนจากบริเวณพื้นที่ของแก้วข้างขวด และในการเลี้ยงชิ้นส่วนสับปะรดในสภาพอาหารเหลวจะมีการขับสารพิษ phenolic ออกมามากจึงทำให้มีการเปลี่ยนอาหารบ่อย ๆ เพื่อป้องกันความเป็นพิษของ phenolic ดังนั้น ในการเตรียม Explants สำหรับการทดสอบ สูตรอาหาร 6 สูตรในสภาพอาหารเหลว จึงควรทำในสภาพอาหารแข็งเพราะให้ต้นอ่อนที่มีความแข็งแรงและเหมาะสมสำหรับการทำการทดลองต่อไป แต่จากการทดลองไม่สามารถบอกได้ว่า อาหารสูตรใดที่มีผลตอบสนองดีที่สุดต่อการเจริญและการพัฒนา เนื่องจากในอาหารแข็ง ได้มีการทดลองเพียงชุดเดียวเท่านั้น

เมื่อต้นอ่อนที่ผ่านการทดสอบจากการเลี้ยงในอาหารแข็งที่มีสภาพแข็งแรง นำมาผ่าครึ่งต้นและแบ่งได้เป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 นำไปเลี้ยงในอาหารเหลว และนำส่วนที่ 2 ไปเลี้ยงในอาหารแข็ง โดยเลี้ยงในสูตรอาหารเดียวกัน ในสภาพอาหารเหลวจะพบว่า อาหารเหลวที่ใช้เลี้ยงมีสีดำจากสาร Phenolic ที่เกิดจากแผลตรงรอยตัดจึงเปลี่ยนอาหารทุก 3 วัน ในช่วง 1 เดือนแรกและสามารถเว้นระยะให้ห่างขึ้นได้ในระยะหลัง ซึ่งผลของการพัฒนาในอาหารสูตรต่าง ๆ แสดงไว้ดังตารางที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบผลการเจริญและการพัฒนาของต้นอ่อนที่ผ่าต้นแล้วในสภาพอาหารแข็งและอาหารเหลวในสูตรอาหารต่างๆ ทั้ง 6 สูตร เป็นเวลา 2 เดือน

สูตรอาหาร	จำนวนหน่อ	ลักษณะการเจริญและการพัฒนา
อาหารแข็ง		
- $1/_2$ MS	-	ลำต้นมีการพัฒนาสูงเพิ่มขึ้นยาวประมาณ 8 ซม. ใบยาวเพิ่มขึ้นมีจำนวนใบมากขึ้น มีสีเขียวเข้ม
- MS	-	ลำต้นมีการพัฒนาเพิ่มสูงขึ้นยาวประมาณ 7 ซม. ใบยาวเพิ่มขึ้น มีสีเขียวเข้ม
- MS+BA 1 mg/1	-	ลำต้นมีการพัฒนาสูงขึ้นยาวประมาณ 10 ซม. ใบยาวมากขึ้น มีสีเขียวเข้ม
- MS+BA 2 mg/1	-	ลำต้นมีการพัฒนาเพิ่มสูงมากขึ้นยาวประมาณ 11 ซม. ใบยาวเพิ่มขึ้น มีสีเขียวเข้ม และมีใบเพิ่มมากขึ้น
- MS+KI 1 mg/1	-	ลำต้นมีการพัฒนาสูงเพิ่มขึ้นยาวประมาณ 12 ซม. ใบมีจำนวนเพิ่มมากขึ้น และยาวมากขึ้นมีสีเขียวเข้ม
- MS+KI 2 mg/1	-	ลำต้นมีการพัฒนาสูงเพิ่มขึ้นยาวประมาณ 11 ซม. ใบมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นและยาวมากขึ้น มีสีเขียวเข้ม
อาหารเหลว		
- 1/2 MS	1	ต้นตอมีขนาดใหญ่เพิ่มสูงมากขึ้น ใบมีจำนวนเพิ่มขึ้นยาวมากขึ้น มีสีเขียวเข้ม หน่อมีขนาด 0.5-0.8 ซม.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

99969

สูตรอาหาร	จำนวนหน่อ	ลักษณะการเจริญและการพัฒนา
- MS	3	ต้นแม่มีขนาดใหญ่เพิ่มสูงมากขึ้น ใบมีจำนวนเพิ่มขึ้น ยาวมากขึ้น มีสีเขียวเข้ม หน่อมีขนาด 0.5-0.8 ซม.
- MS+BA 1 mg/1	12	ต้นแม่มีขนาดสูงเพิ่มมากขึ้น ใบมีขนาดยาวมากขึ้น มีจำนวนใบเพิ่มขึ้น หน่อมีขนาดตั้งแต่ 0.5-3 ซม.
- MS+BA 2 mg/1	7	ต้นแม่มีความสูงเพิ่มขึ้น ใบมีขนาดยาวมากขึ้น หน่อมีขนาดตั้งแต่ 0.5-3 ซม.
- MS+KI 1 mg/1	3	ต้นแม่มีความสูงเพิ่มขึ้น ใบมีขนาดยาวมากขึ้น จำนวนใบเพิ่มขึ้น หน่อมีขนาดตั้งแต่ 0.5-1 ซม.
- MS+KI 2 mg/1	-	ต้นแม่สูงมากขึ้น ใบมีขนาดยาวเพิ่มขึ้น จำนวนใบมีมากขึ้น

จากตารางที่ 2

จะเห็นได้ว่าการผ่าครึ่งต้นนั้นจะช่วยเพิ่มจำนวนต้นของสับปะรดได้เป็นหลายเท่าจากต้นแม่เพียงต้นเดียว การนำต้นแม่ที่ผ่าครึ่งต้นเลี้ยงในสภาพอาหารเหลว พบว่าในอาหารเหลวสูตร MS+BA 1 mg/1 ให้จำนวนต้นแขนงที่ขึ้นจากต้นผ่ามากที่สุด (ดังแสดงในภาพที่ 3) ภายในเวลา 2 เดือน ให้จำนวนต้นแขนง 12 ต้น สูตรอาหารที่ให้จำนวนต้นแขนงรองลงมาคือสูตร MS + BA 2 mg/1 ให้จำนวนต้นแขนง 7 ต้น ภายในเวลา 2 เดือน สูตร MS + KI 1 mg/1 และ MS ภายในเวลา 2 เดือน ให้จำนวนต้นแขนง 3 ต้นเท่านั้น อาหารสูตร 1/2 MS ให้ต้นแขนงเพียง 1 ต้นภายในเวลา 2 เดือน ส่วนอาหารสูตร MS+KI 2 mg/1 ต้นแม่มีขนาดสูงมากกว่าการเลี้ยงในอาหารสูตรอื่นๆ ส่วนในสภาพอาหารแข็งนั้น ต้นที่ผ่าไม่มีการแตกของต้นแขนงเลย (ดังแสดงใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4) แต่ต้นแม่มีการเจริญและพัฒนาสูงขึ้นและแตกใบเพิ่มมากขึ้น เหตุที่การเลี้ยงในอาหารเหลวมีการพัฒนาได้ดีกว่าในอาหารแข็ง เนื่องจากการเลี้ยงในอาหารเหลวจะทำให้ต้นที่ถูกผ่าได้รับอาหารทุกทิศทาง จึงทำให้การเลี้ยงต้นที่ผ่าในอาหารเหลวมีการเจริญและพัฒนาจนสามารถเร่งขบวนการต่าง ๆ ทางชีวเคมีจนสามารถแตกแขนงย่อยได้มากกว่าการเลี้ยงต้นที่ผ่าในอาหารแข็ง

ฉะนั้นในการเตรียม Explants สำหรับการทดลองต่อไปจึงควรนำต้นที่ผ่าต้นเลี้ยงในสภาพอาหารเหลวสูตร MS+BA 1 mg/1 เพราะให้ผลดีที่สุด คือ ให้จำนวนต้นแขนงมากในระยะเวลาอันสั้น

ในสับปะรดประดับ

เพื่อเป็นแนวทางการขยายพันธ์สับปะรดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จึงศึกษาการเพิ่มจำนวนต้นแขนงจาก Explants ของสับปะรดที่เลี้ยงอยู่ในอาหารเหลวสูตร MS+KI 2 mg/1 มาขยายเพิ่มจำนวนในอาหารสูตรต่างๆ ซึ่งผลแสดงในตารางที่ 3 และภาพที่ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงผลการศึกษาสภาพของอาหารเหลว 6 สูตร เพื่อทำการเปรียบเทียบสูตรอาหารที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนต้นแขนงของสับปะรดประดับ โดยทำการทดสอบเป็นเวลา 2 เดือน

สูตรอาหาร	ระยะเวลา (เดือน)	จำนวน plantlets	ลักษณะการเจริญและการพัฒนา
1/2 MS	1	4	มีการเจริญของต้นแม่เพิ่มขึ้นมีความสูงประมาณ 3 ซม. หน่อมีขนาด 0.5 ซม. มีสีเขียวอ่อน มีรากเล็กน้อย
	2	12	ต้นแม่มีขนาดความสูงประมาณ 7 ซม. มีใบเพิ่มมากขึ้น หน่อเดิมมีขนาดยาวเพิ่มขึ้นเป็น 1 ซม. ส่วนหน่อใหม่ มีขนาด 0.5 ซม. รากมีความยาวเพิ่มมากขึ้น และมีจำนวนเพิ่มมากขึ้นด้วย
MS	1	-	ต้นแม่มีความสูง เพิ่มขึ้นประมาณ 2 ซม. มีใบแตกเพิ่ม 2-3 ใบ
	2	3	ต้นแม่มีความสูงประมาณ 4 ซม. มีใบแตกเพิ่ม หน่อมีความสูงประมาณ 0.5 ซม. มีสีเขียวอ่อน
MS+BA 1 mg/l	1	7	ต้นแม่มีความสูงประมาณ 3 ซม. มีใบแตกเพิ่ม 2-3 ใบ หน่อมีขนาด 0.5 ซม. มีสีเขียวอ่อน
	2	45	ต้นแม่มีความสูงประมาณ 5 ซม. มีใบแตกเพิ่มมากขึ้น หน่อเดิมมีขนาดประมาณ 1-1.5 ซม. หน่อใหญ่มีความสูงประมาณ 0.5 ซม. หน่อเดิมมีสีเขียวเข้มมากขึ้น หน่อใหม่มีสีเขียวอ่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

14666

สูตรอาหาร	ระยะเวลา (เดือน)	จำนวน plantlets	ลักษณะการเจริญและการพัฒนา
MS+BA 2 mg/l	1	3	ต้นแม่มีความสูงประมาณ 3 ซม. มีใบเพิ่ม 2-3 ใบ หน่อที่เกิดมีขนาดสูงประมาณ 0.4 ซม. มีสีเขียวอ่อน
	2	29	ต้นแม่มีขนาดความสูงประมาณ 4 ซม. มีจำนวนใบแตกเพิ่ม 2-3 ใบ หน่อเดิมมีขนาด 1-1.5 ซม. มีใบสีเขียวเข้ม หน่อใหม่มีขนาด 0.5 ซม. มีใบสีเขียวอ่อน
MS+KI 1 mg/l	1	3	ต้นแม่มีความสูงประมาณ 2.5 ซม.ใบแตกเพิ่ม 2-3 ใบ หน่อมีขนาด 0.5 ซม. มีรากเกิดขึ้นเล็กน้อย
	2	6	ต้นแม่มีความสูงประมาณ 7 ซม. แตกใบเพิ่ม 3-5 ใบ หน่อเดิมมีความสูงประมาณ 1-2 ซม. มีสีเขียวเข้ม หน่อใหม่มีความสูงประมาณ 0.5 ซม. มีสีเขียวอ่อน รากมีความยาวเพิ่มมากขึ้น
MS+KI 2 mg/l	1	4	ต้นแม่มีความสูงประมาณ 3.5 ซม.แตกใบเพิ่ม 2-3 ใบ หน่อมีความสูงประมาณ 0.5 ซม. มีสีเขียวอ่อน
	2	8	ต้นแม่มีความสูงประมาณ 8 ซม. แตกใบเพิ่มอีก 3-4 ใบหน่อเดิมสูง ประมาณ2-2.5 ซม. และหน่อใหม่มีความสูง 0.5 ซม. มีสีเขียวอ่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า

จากตารางที่ 3

พบว่าอาหารสูตร MS+BA 2 mg/1 ให้จำนวนต้นแขนงมากที่สุด คือ ให้จำนวน 45 ต้น ในระยะเวลา 2 เดือน และในอาหารสูตร MS+BA 2 Mg/1จะให้จำนวนต้นแขนงรองลงมา คือให้จำนวนต้นแขนง 24 ต้น ภายในระยเวลา 2 เดือน ในอาหารสูตร 1/2 MS,MS,MS+KI 1 mg/1 และ MS+KI 2 mg/1 ให้ผลไม้แตกต่างกันมากนัก คือ 12,3,6 และ 8 ต้นตามลำดับ ภายในระยะเวลา 2 เดือน เช่นกัน ฉะนั้นจะเห็นได้ว่าในอาหารเหลวสูตร MS+BA 1 mg/1 ให้จำนวนต้นแขนงมากกว่าการนำ Explants ของสับปะรดไปเลี้ยงในอาหารสูตรอื่น ๆ ที่มีการใช้เวลาเลี้ยงที่ใช้ระยะเวลาเท่ากัน อาหารเหลวสูตร MS+BA 1 mg/1 จึงเหมาะสมมากที่สุด สำหรับการนำไปใช้ในการขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มจำนวนของสับปะรดครั้งละมาก ๆ ทั้งนี้เพราะ BA จัดเป็นฮอร์โมนอยู่ในกลุ่ม cytokynine ซึ่งจะกระตุ้นการแตกยอดของพืช ซึ่งการทดลองส่วนใหญ่ในบทตรวจเอกสารจะใช้ระดับ BA 0.5-1.0 mg/1 ในการขยายต้นแขนงเช่นเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

การขยายพันธุ์สับปะรดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเราใช้ได้ทั้งหน่อและจุก สำหรับผลการศึกษานี้เป็นการศึกษาส่วนของจุก การใช้ส่วนของจุกเรามักจะได้ตายอดสำหรับนำไปเพาะเลี้ยง เพราะถ้าจุกขนาดไม่ใหญ่ตาข้างจะเล็กมากเกินไปที่จะนำไปเพาะเลี้ยง

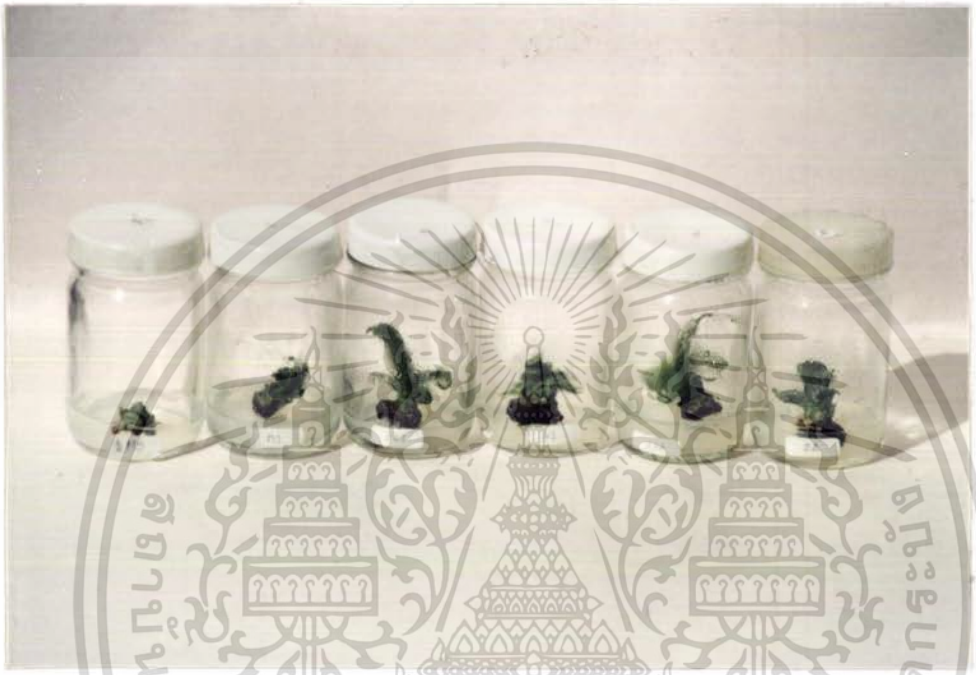
การชักนำให้ตายอดของจุกเจริญและพัฒนาเริ่มต้นต้องเลี้ยงในอาหารแข็ง ซึ่งจะตอบสนองได้ดีทุกสูตรอาหารที่ทดลอง การเริ่มต้นพัฒนาได้เร็วเพียงใดขึ้นอยู่กับความปราณีตในการฟอกฆ่าเชื้อ ส่วนการเลี้ยงในอาหารเหลวในระยะเริ่มต้นจะให้ผลไม่ดีและยอดอ่อนมักจะตายเนื่องจากความบอบช้ำจากการเขย่า

เมื่อนำต้นอ่อนที่เริ่มพัฒนามาจากยอดแล้วมาเลี้ยงเพื่อเพิ่มจำนวน การเลี้ยงในอาหารเหลวจะตอบสนองได้ดีกว่าในอาหารแข็งซึ่งในอาหารแข็งทุกสูตรจะไม่มีการแตกเพิ่มจำนวนต้น แต่ในอาหารเหลวสามารถเพิ่มจำนวนต้นแขนงได้ทุกสูตรอาหารโดยที่อาหารสูตร MS + BA 1 Mg/l จะให้ต้นได้มากที่สุด คือในระยะเวลา 2 เดือน จะเพิ่มต้นแขนงได้ถึง 45 ต้น (จากการศึกษาในสับปะรดประดับ)

แนวทางในการเพิ่มจำนวนต้นแขนงให้เร็วขึ้นอีกวิธีหนึ่งคือ การผ่าต้นที่มีขนาด 1 นิ้วขึ้นไป สามารถผ่าได้ตั้งแต่ 2 ส่วน จนถึง 4 ส่วน ขึ้นกับขนาดของต้น ต้นที่ถูกผ่านี้จะตอบสนองในอาหารทุกสูตร โดยที่อาหารสูตร MS+BA 1 Mg/l จะได้ต้นแขนงมากที่สุดถึง 12 ต้น สำหรับในอาหารแข็งจะไม่ได้จำนวนต้นแขนงเพิ่มขึ้นเพียงแต่ต้นจะโตและสมบูรณ์ขึ้นเท่านั้น

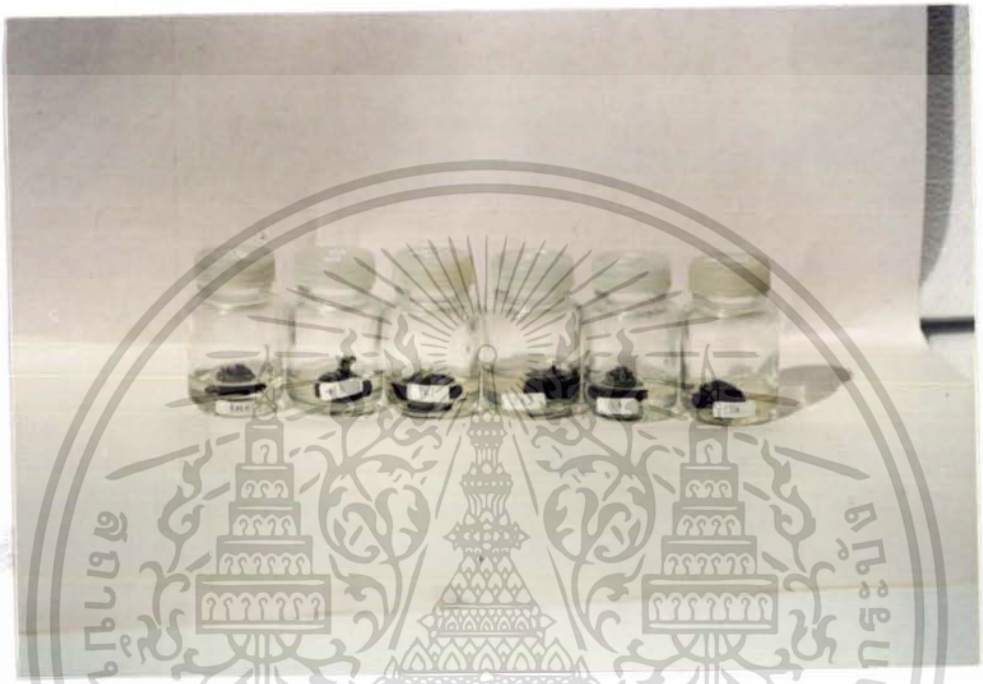
ถึงแม้ว่าผลของการขยายต้นแขนงในอาหารสูตร MS+BA 1 Mg/l จะให้ผลดีที่สุดก็ตาม แต่ในการขยายสายพันธุ์ที่ดีต้องคำนึงถึงต้นที่ได้ต้องตรงตามพันธุ์เดิม ดังนั้นจึงจะมีการศึกษาถึงผลของระดับฮอร์โมนที่ใช้ต่อลักษณะผันแปรที่เกิดต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 แสดงลักษณะการเจริญและการพัฒนาของตายอด (จุก) ที่เลี้ยงในสภาพอาหารแข็งสูตรต่าง ๆ ทั้ง 6 สูตร นาน 2 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

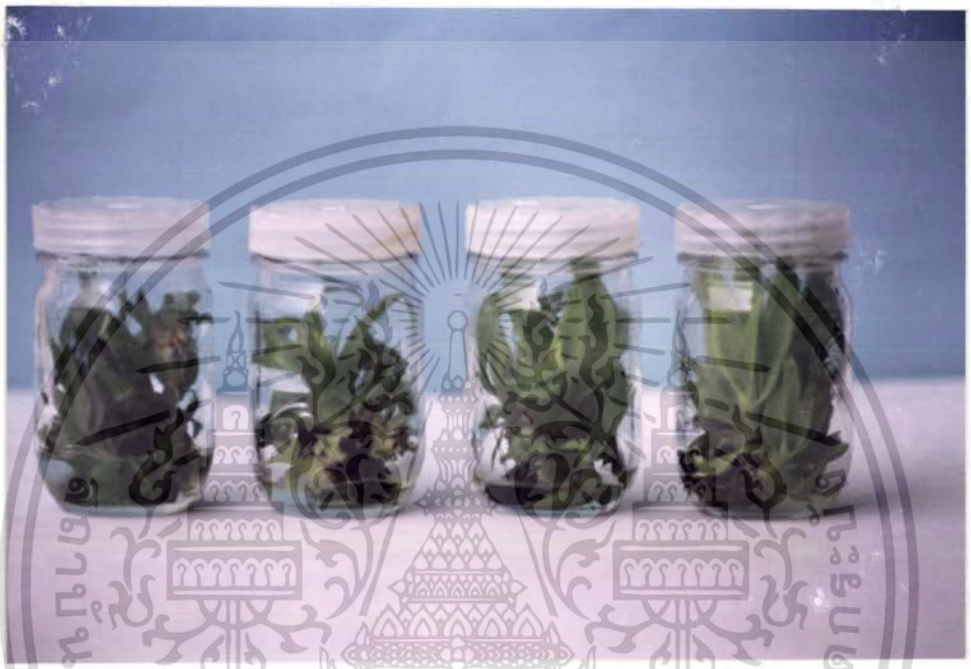


ภาพที่ 2 แสดงลักษณะการเจริญและพัฒนาของตายอด (จุก) ในสภาพอาหารเหลว สูตรต่าง ๆ 6 สูตร นาน 2 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 3 แสดงการเจริญเติบโตและการพัฒนาของต้นอ่อนที่พัฒนาจากตายอด (จุก) เมื่อทำการผ่าครึ่งและเลี้ยงในอาหารแข็ง สูตรต่าง ๆ นาน 2 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4 แสดงลักษณะการเจริญและการพัฒนาของต้นอ่อนที่พัฒนาจากตายอด (จุก) เมื่อทำการผ่าครึ่งต้น และเลี้ยงในสภาพอาหารเหลว นาน 2 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 5 แสดงลักษณะการเจริญและการพัฒนาของ Explants (สับปะรดสี) ที่เลี้ยงในสภาพอาหารเหลวสูตรต่าง ๆ 6 สูตร นาน 2 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

1. จารุพันธ์ ทองแถม ไพรัช ธีระวุฒิชัย และวิชัย หฤทัยธนาสันต์. 2518. การศึกษาลักษณะประจำพันธุ์และคุณภาพของสับปะรดพันธุ์ต่าง ๆ ในประเทศไทย. รายงานค้นคว้าวิจัย 2518-2519. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

2. จารุพันธ์ ทองแถม. 2526. สับปะรดและอุตสาหกรรมสับปะรดในประเทศไทย. ภาควิชาพืชสวน. คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

3. ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2536. เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. ภาควิชาพฤกษศาสตร์. คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

4. พิศมัย ประจันตะเสน และอังสนา บุณโยภาส. 2522. การขยายพันธุ์สับปะรดโดยการผ่าแบ่งจุก. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

5. ศิริพร เบญจศรีอักษร. 2534. ไม้ประดับสกุลสับปะรดสี. มิตรสยาม. กรุงเทพฯ.

6. สกาวเดือน มั่งมี และ สุดารัตน์ นิตวัฒนะ. 2533. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี การขยายพันธุ์สับปะรด (Ananas comosus (L.) Merr) โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สจล. กรุงเทพฯ.

7. สอาด ร่มรื่นสุขารมย์. 2525. การขยายพันธุ์สับปะรดแคระ (Ananas comosus) ในสภาพปลอดเชื้อ. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

8. นิรนาม. 2537. เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการสับปะรด ครั้งที่ 1 เล่มที่ 2 วันที่ 27-29 เมษายน พ.ศ. 2537. ณ โรงแรมปาล์มบีช กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. อรดี สหวัชรินทร์. 2522. ประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้านการเกษตร. วารสารพืชสวน. 14 (4) : 35-44.

10. Aghion, D. and G. Beauchesne. 1960. Utilisation de la technique de culture sterile d' organes pour obtenir des clones d' Ananas. Fruits. 15:464-466. (อ้างโดย สอาด, 2525)

11. Macluskie, H. 1939. Pineapple propagation : A new method in Sierra Leone. Trop. Agric. (Trinidad) 16 : 192-193.

12. Mapes, M.O. 1973. Tissue culture of Bromeliads. The International Propagators' Society. 23 : 47-55.

13. Murashige, T. and F. skoog 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiol Plant. 15 : 473-487.

14. Pannetier, C. and C. Lanaud. 1976. Divers aspects de/' utilisation possible des culture "in vitro" par la multiplication vegetative de /' Annans comosus L. Merr. varietl "Cayenne lisse." Fruits. 31 : 739-750. (อ้างโดย สอาด, 2537)

15. Rangan, T.S. and V.H. Mathews. 1981. Growth and regeneration of plantlets in callus cultures of pineapple. Hort. Science. 14 : 227-234.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

16. Teo, C.K.H. 1975. The significance of tissue culture to malaysian pineapple industry. Malaysian Food Self Sufficiency Conference. 9:1-5.

17. Wakasa, K. 1979. Variation in plants differentiated from the tissue culture of pineapple. Jpn. J. Breed. 28:113-121.

18. Zepeda, C. and Y. Sagawa. 1981. In vitro propagation of pineapple. Hort. Science. 16:495.

19. Zimmer, K. and W. Pieper. 1976. In vitro culture of aechmeas. Acta. Hort. 64:25-29.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ส่วนประกอบของ inorganic macronutrient, micronutrient และ organic contituents ของสูตรอาหาร Murashige and Skoog (1962) ที่ใช้ในการทดลอง แสดงในตารางผนวกที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ

ตารางผนวกที่ 1 Inorganic macronutrient (mg/l)

Contituents	Murashige and Skoog
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	370
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	440
KNO_3	1,900
NH_4NO_3	1,650
KH_2PO_4	170

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2 Inorganic micronutrients (mg/l)

Contituents	Murashige and Skoog
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	27.8
$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	22.3
KI	0.83
$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.025
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.6
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.025
H_3BO_3	6.2
$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 3 Organic constituents (mg/l)

Contituents	Murashige and Skoog
Glycine	2
Myo-inositol	100
Vitamin B_1	0.1
Vitamin B_6	0.5
Nicotinic acide	0.5
Na_2EDTA	37.3

ในสูตรอาหารแข็งใช้ Difco "Bacto" agar 6.0 g/l

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้