รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด ปี 2558

ชุดโครงการวิจัย วิจัยและพัฒนาสับปะรด

โครงการวิจัย การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสับปะรด

ชื่อการทดลอง การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตต้นพันธุ์สับปะรด MD2 โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Increasing efficiency on propagation of pineapple cv. MD_2 by tissue culture system

คณะผู้ดำเนินการ

หัวหน้าการทดลอง ทวีศักดิ์ แสงอุดม [1/]

ผู้ร่วมงาน พฤกษ์ คงสวัสดิ์ [2/] สุภาภรณ์ สาชาติ [1/]

เอื้องฟ้า หอมสุวรรณ[2/] ธวัชชัย นิ่มกิ่งรัตน์[2/]

บทคัดย่อ

สับปะรดพันธุ์ MD_2 เป็นพันธุ์ที่มีศักยภาพการส่งออกในรูปผลสดสูงและเกษตรกรมีความต้องการหน่อพันธุ์มาก แต่หน่อพันธุ์มีน้อยและราคาแพง ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาและคัดเลือกต้นพันธุ์ดีและนำมาทำการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ รวมทั้งศึกษาวัสดุเพาะชำและสูตรปุ๋ยที่เหมาะสมในช่วงอนุบาลต้นในเรือนเพาะชำ ดำเนินการ ต.ค. 2557- กันยายน 2558 ณ สถาบันวิจัยพืชสวน ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ และสวนเกษตรกร จ. เพชรบุรี ประจวบฯ และระยอง โดยได้ทำการคัดเลือกต้นแม่พันธุ์ที่ให้ผลตรงตามเกณฑ์ นำผลมาวิเคราะห์คุณภาพ และนำหน่อและจุกจากต้นที่คัดเลือกไปขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 3 ระบบ คือ ระบบอาหารแข็ง ระบบอาหารเหลว และระบบจมชั่วคราว (temporary immersion Bioreactor (TIB) ผลการดำเนินงานด้านการศึกษาและคัดเลือกต้นพันธุ์ดีพบว่า ผลผลิตจากแปลงเกษตรกร 3 แหล่ง มีน้ำหนักผลเฉลี่ยระหว่าง 1,224.7-1,377.8 กรัม Total Soluble Solids(TSS) เฉลี่ย 14.5 เปอร์เซ็นต์บริกซ์ กรด 0.71 % วิตามินซี 50.45 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด โดยแปลงเกษตรกร จ.ระยอง ให้น้ำหนักผลและ TSS สูงสุด ด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรดพันธุ์ MD2 พบว่า อาหารสูตร Murashige and Skoog 1962 (MS) เพิ่ม 6-benzylaminopurine (BA) ระดับ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมกับระบบอาหารแข็ง. อาหารสูตร MS เพิ่ม BA ระดับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมกับระบบอาหารเหลว และอาหารสูตร MS เพิ่ม BA ระดับ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมกับระบบจมชั่วคราว (TIB) ซึ่งระบบ TIB อัตราการขยายเพิ่มจำนวนต้นได้เร็วกว่าอาหารแข็ง 50 เท่า ส่วนการอนุบาลต้นสับปะรด MD2 ที่ย้ายจากขวดลงในถาดหลุม(72 หลุม)เมื่อต้นมีความสูง 4-5 เซนติเมตรและมีรากใช้วัสดุเพาะเลี้ยง 6 ชนิด ได้แก่ ทราย ขุยมะพร้าว พีสมอส เส้นใยมะพร้าว ทรายผสมขุยมะพร้าวอัตราส่วน 1:1 และทรายผสมพีสมอส อัตราส่วน 1:1 พบว่า ทรายเป็นวัสดุปลูกที่ดีที่สุดในช่วงฤดูร้อนและช่วงฤดูฝนซึ่งแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ด้านสูตรปุ๋ยได้ศึกษา 6 สูตร คือปุ๋ยสัดส่วน 4:2:5 ความเข้มข้น 100 และ 200 ppm สัดส่วน 3:1:5 ความเข้มข้น 100 และ 200 ppm สัดส่วน 1:1:1 ความเข้มข้น 200 ppm และน้ำเปล่า พบว่า ปุ๋ยสัดส่วน 3:1:5 ความเข้มข้น 200 ppm ให้ต้นเจริญเติบโตดีสุด แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่นๆ และ

ปุ๋ยสัดส่วน 4:2:5 ความเข้มข้น 200 ppm ให้ความยาวรากสูงสุด ใกล้เคียงกับปุ๋ยสัดส่วน 4:2:5 และ 3:1:5 ความเข้มข้น 100 ppm ซึ่งแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ด้านต้นทุนการผลิตต้นสับปะรดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตั้งแต่ขั้นตอนการฟอกและเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนได้ต้นพร้อมปลูกในสภาพแปลง(ความสูง 15 เซนติเมตร) ทั้ง 3 ระบบคืออาหารแข็ง อาหารเหลว และ TIB มีต้นทุนเฉลี่ย 11.57 9.3 และ 3.58 บาท/ต้น ตามลำดับ

รหัส 01-18-54-02-00-00-09-55

[1/] สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร [2/] ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ

Abstract

Nowadays, the pineapple cv. MD2 is the highest potential for exporting as flesh fruit. Farmers need to grow this cultivar more and more but they lack of planting materials and the materials are expensive. To solve this problem, this study was done on increasing efficiency on propagation of pineapple cv. MD_2 by tissue culture systems. The trial was conducted during October 2014 to September 2015 at Hotricultural Research Institute, Srisaket Hotricultural Research Centre and farmer's orchards in Petchaburi, Pachup-Kilikhan and Rayong provinces. Two trials were studied. First, clonal selection of MD_2 was studied to use for planting materials in tissue culture. Second, propagation by tissue culture systems was studied. . The results were found that the quality of MD_2 cultivar from three farmer's orchards were 1,224.7-1,377.8 g average fruit weight, 14.5% total soluble solids , 0.71% titratable acidity and 50.45 mg/100FW ascorbic acid. On tissue culture systems, it was found that Temporary Immersion Bioreactor(TIB) was the most effective method, following by liquid and solid culture, respectively. The suitable planting media for transplanted plantlets from laboratory to plot tray (72 holes) were sand and peat-moss. The suitable ratio of fertilizer for applying plantlets during growing in green houses was 3:1:5 at the rate of 200 ppm. Costs of production per one plantlet by using different tissue culture systems including solid, liquid or TIB were 11.57, 9.3 and 3.58 bath/plantlet, respectively. TIB system is the highest efficiency method than liquid and solid methods.

คำนำ

สับปะรดพันธุ์ MD2 เป็นสับปะรดรับประทานสดที่เป็นพันธุ์การค้าหลักของโลก.ในปัจจุบัน สับปะรดพันธุ์นี้ได้รับการพัฒนาที่ฮาวายตั้งแต่ปี 2515 และมีการนำเข้ามาปลูกในประเทศไทยโดยบริษัทโดลไทยแลนด์แต่ไม่ได้แพร่กระจายพันธุ์มากนัก ปัจจุบันมีการปลูกเป็นการค้าแพร่หลายในหลายประเทศและส่งออกในรูปผลสด ลักษณะเด่นของสับปะรดพันธุ์นี้คือเนื้อเหลืองสม่ำเสมอ หนามน้อย เนื้อแน่น และไม่เป็นโพรง อายุการเก็บรักษานาน และรสชาติหวานกว่า S. cayenne ก้านผลสั้น รูปทรงผล square shape (เปรม, 2554, และ pip, 2011) จากการทดลองเก็บรักษาโดยวรางคณาและคณะ(2557) พบว่าสามารถเก็บได้นาน 5-6 สัปดาห์โดยไม่เกิดอาการไส้สีน้ำตาล ซึ่งอาการไส้สีน้ำตาลเป็นปัญหาสำคัญในการส่งออกสับปะรดผลสด โดยเฉพาะสับปะรดบริโภคสดของไทยในกลุ่มควีนเช่น พันธุ์ตราดสีทอง สวี ภูเก็ตเป็นพันธุ์ที่ตลาดต้องการแต่อ่อนแอต่ออาการฯดังกล่าวและส่วนใหญ่เก็บรักษาได้ไม่เกิน 2 สัปดาห์ สำหรับประเทศไทยการปลูกสับปะรด MD2 มีปริมาณไม่มากนัก และจากการประชุมคณะอนุกรรมการบริหารจัดการสับปะรดแห่งชาติในช่วงแผน(2553-2558) ที่ผ่านมาที่ประชุมต้องการให้กรมวิชาการเกษตรขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรดพันธุ์นี้ ทั้งนี้เนื่องจากปัจจุบันหน่อพันธุ์มีปริมาณจำกัดและราคาแพงแต่เกษตรกรมีความต้องการหน่อมาก ดังนั้นจึงจำเป็นเร่งด่วนที่จะต้องดำเนินศึกษาคัดเลือกต้นแม่พันธุ์และศึกษาการเพิ่มจำนวนต้นสับปะรดพันธุ์ MD2 โดยได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบต่างๆ ซึ่งระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดั้งเดิมที่ใช้กันอยู่ที่เราเรียกว่า conventional solid culture คือการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารแข็ง ซึ่งมีข้อดีคือเนื้อเยื่อพืชจะไม่ค่อยเกิดความเสียหายจากปัญหาการฉ่ำน้ำ แต่มีข้อเสียคือต้นพืชโตช้าและต้องเปลี่ยนอาหารใหม่โดยการย้ายเนื้อเยื่อจากขวดเก่าไปยังขวดใหม่(subculture) จึงมีโอกาสเกิดการปนเปื้อนสูงมาก อีกระบบคือ Liquid culture คือการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเพาะเลี้ยงที่เป็นของเหลว ซึ่งต่างกับอาหารแข็งตรงที่อาหารเพาะเลี้ยงที่เป็นของเหลวจะไม่ใส่วุ้น(Agar) ลงไปเป็นส่วนประกอบ มีข้อดีกว่าระบบแรกตรงที่พืชโตได้เร็วแต่มีข้อเสียตรงที่เนื้อเยื่อพืชมักเกิดปัญหาฉ่ำน้ำ ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชระบบการจมชั่วคราว (Temporary Immersion Bioreactor; TIB) ระบบนี้มีภาชนะแยกส่วนอาหารกับชิ้นส่วนพืชออกเป็น 2 ส่วน แต่ละส่วนมีท่อเชื่อมเพื่อให้มีการดันอาหารไป-กลับ ด้วยแรงดันลมจากปั๊มลม ซึ่งสภาพภายในขวดเป็นสภาพปลอดเชื้อโดยการกรองอากาศที่เข้าสู่ Bioreactor ด้วยแผ่นกรองอากาศ ขนาดรูพรุน 0.2 ไมโครเมตร โดยมีการกำหนดระยะเวลาและจำนวนครั้งในการได้รับอาหารของพืชตามความเหมาะสม ทำให้พืชไม่จมในอาหารเหลวตลอดเวลาช่วยลดปัญหาการฉ่ำน้ำของพืช ช่วยลดขั้นตอนในการทำงานเช่น การตัดถ่ายเนื้อเยื่อ การเปลี่ยนถ่ายอาหาร การเตรียมภาชนะและอุปกรณ์ต่างๆรวมถึงการล้างทำความสะอาด ส่งผลให้การใช้แรงงานในการทำงานลดลง นอกจากนี้ความจุของภาชนะของระบบ bioreactor นี้สามารถเพิ่มขึ้นได้ 4-5 เท่า แต่ข้อด้อยของระบบนี้คือการลงทุนสูงในเบื้องต้น และต้องมีความรู้และความชำนาญเพื่อให้ได้เทคโนโลยีการผลิตต้นพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ในด้านการอนุบาลต้นหลังจากการย้ายจากขวดนำไปเพาะชำในถาดหลุมในโรงเรือนพบว่าวัสดุเพาะชำมีความสำคัญวัสดุที่ใช้เพาะชำต้นกล้าพืชส่วนใหญ่เช่นแกลบดำ ขุยมะพร้าว แกลบดิบผสมดิน ทราย รวมทั้งพีสมอส ซึ่งต้นกล้าสับปะรดที่ออกจากขวดเพาะเลี้ยงจะมีขนาดเล็กความสูง 4-5 เซนติเมตรและไม่แข็งแรง จึงต้องการวัสดุเพาะชำในเบื้องต้นที่เหมาะสมเพื่อให้เปอร์เซ็นต์รอดตายสูง ส่วนในด้านการให้ปุ๋ยกับต้นกล้าสับปะรดขณะอนุบาลต้นในโรงเรือนมีความสำคัญ เพราะต้นกล้าสับปะรดที่ย้ายจากขวดจนถึงสามารถนำไปปลูกได้ต้องมีความสูง

ประมาณ 15 เซนติเมตร จึงต้องใช้เวลาในการอนุบาลอยู่ในเรือนเพาะชำ 3-4 เดือน การให้ปุ๋ยส่วนใหญ่ให้ปุ๋ยทางใบ ซึ่งโดยปกติสับปะรดนับว่าเป็นพืชที่ใช้ปุ๋ยต่อไร่ค่อนข้างมาก แต่ปุ๋ยที่ใส่ส่วนหนึ่งจะสูญเสียไปโดยเปล่าประโยชน์ ทั้งจากการที่ใส่ไปแล้วดินขาดความชื้นพืชไม่สามารถดูดธาตุอาหารไปใช้ได้และส่วนหนึ่งปุ๋ยจะสูญเสียไปจากแสงแดดและการชะล้าง จากรายงาน ค่าที่เหมาะสมของ N, P, K ในดินปลูกสับปะรดคือ 120, 20 และ 150 ppm และค่าวิกฤตของ N, P, K ในดินคือน้อยกว่าหรือเท่ากับ 50, 5 และ 60 ppm ส่วนค่าที่เหมาะสมของ Ca, Mg, Fe, และ ZN คือ 100, 50, 27-78 และ 4 ppm และค่าวิกฤตในดินคือน้อยกว่าหรือเท่ากับ 25, 10, 3 และ 3 ppm ตามลำดับ(Pip, 2011) ซึ่งการให้ธาตุอาหารกับต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อซึ่งต้นมีขนาดเล็กจึงจำเป็นต้องให้ธาตุอาหารทางใบ ซึ่งสัดส่วนปุ๋ยและความเข้มข้นที่เหมาะสมจะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นให้ดีสุดก่อนที่จะย้ายลงปลูกในแปลงปลูกต่อไป ดังนั้นการคัดเลือกต้นพันธุ์ดีและการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตต้นพันธุ์สับปะรด MD2 โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะทำให้ได้ต้นพันธุ์ดีและได้เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรดพันธุ์ MD2 ที่สามารถนำไปขยายผลเชิงพาณิชย์ ซึ่งจะช่วยเพิ่มศักยภาพการผลิตต้นพันธุ์สับปะรด MD2 ให้เพิ่มมากขึ้นและเป็นแนวทางหนึ่งที่ช่วยเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันตลอดห่วงโซ่การผลิตสับปะรดผลสดเพื่อการส่งออกต่อไป

วิธีดำเนินการ

การดำเนินการครั้งนี้มี 2 ส่วนคือ

ส่วนที่ 1 การศึกษาคัดเลือกต้นพันธุ์ดีและตรวจสอบคุณภาพผลสับปะรดพันธุ์ MD2

ส่วนที่ 2 การศึกษาการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ศึกษาวัสดุเพาะชำและสูตรปุ๋ยที่เหมาะสมในช่วงอนุบาลต้นในเรือนเพาะชำ

<u>ส่วนที่ 1</u> การศึกษาคัดเลือกต้นพันธุ์ดีและตรวจสอบคุณภาพผลสับปะรดพันธุ์ MD2

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u>

-

<u>วิธีดำเนินการทดลอง</u>

1. การคัดเลือกต้นแม่พันธุ์ ได้ทำการเก็บผลสับปะรดจากต้นพันธุ์จากแปลงเกษตรกร จ.เพชรบุรี ประจวบฯ และ จ.ระยอง โดยมีเกณฑ์การคัดเลือกโดยเลือกต้นแม่พันธุ์สมบูรณ์ ให้ผลผลิตที่รูปทรงผล square shape น้ำหนักผลมากกว่า 1 กิโลกรัม ความสุกแก่ 25-30% นำผลมาตรวจสอบคุณภาพด้านต่างๆ รวมถึงอายุการเก็บรักษา โดยก่อนนำผลไปเก็บรักษาทำการหักจุกออก ทาปูนที่รอยแผลที่ผลและนำผลไปเก็บรักษาและวิเคราะห์คุณภาพหลังการเก็บรักษา และนำจุกจากผลและหน่อจากต้นแม่ไปทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

<u>ส่วนที่ 2</u> การศึกษาการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ รวมทั้งศึกษาวัสดุเพาะชำและสูตรปุ๋ยที่เหมาะสมในช่วงอนุบาลต้นในเรือนเพาะชำ

2.1 การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 3 ระบบคือ

1) <u>ศึกษาการเพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็ง</u> โดยใช้อาหารสูตร MS เพิ่ม BA ที่ระดับ 2.0 มล./ลิตร เป็นชุดควบคุม (Control) ตามผลการศึกษาของ Kiss (1995) มี 4 กรรมวิธี 10 ซ้ำ ๆ ละ 4 ต้น กรรมวิธี คือ อาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช BA ที่ระดับ 2 4 6 และ 8 มล./ลิตร ติดตามการพัฒนาในสัปดาห์ที่ 4 5 และ 6 สัปดาห์

2) <u>ศึกษาการเพาะเลี้ยงในระบบอาหารเหลว</u> โดยใช้อาหารสูตร MS เพิ่ม BA ที่ระดับ 5.0 มล./ลิตร เป็นชุดควบคุม (Control) ตามผลการศึกษาของ Danso (2008) ศึกษาเบื้องต้นโดยใช้อาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช BA ที่ระดับ 1 3 5 และ 7 มล./ลิตร ติดตามการพัฒนาในสัปดาห์ที่ 4 สัปดาห์

3) <u>ศึกษาการเพาะเลี้ยงในระบบอาหารเหลวแบบจมชั่วคราว (temporary immersion Bioreactor (TIB))</u> โดยใช้อาหารสูตร MS เพิ่ม BA ที่ระดับ 5.0 มล./ลิตร เป็นชุดควบคุม (Control) ตามผลการศึกษาของ Danso (2008) ศึกษาเบื้องต้นโดยใช้อาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช BA ที่ระดับ 1 3 5 และ 7 มล./ลิตร ติดตามการพัฒนาในสัปดาห์ที่ 4 สัปดาห์

2.2 ศึกษาการจัดการอนุบาลต้นพันธุ์สับปะรดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ประกอบด้วย 2 การทดลองย่อย คือ

2.2.1 ศึกษาวัสดุปลูกที่เหมาะสมในการออกปลูกต้นกล้าสับปะรดพันธุ์ MD2

วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำๆ 49 ต้น

กรรมวิธีที่ 1 ทราย

กรรมวิธีที่ 2 ขุยมะพร้าว

กรรมวิธีที่ 3 เส้นใยมะพร้าว

กรรมวิธีที่ 4 พีสมอส

กรรมวิธีที่ 5 ทรายผสมพีสมอสอัตราส่วน 1:1

กรรมวิธีที่ 6 ทรายผสมขุยมะพร้าวอัตราส่วน 1:1 (Control)

ขั้นตอนและวิธีการ

1) เตรียมต้นสับปะรดพันธุ์ MD2 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางพุ่ม 3-5 ซม.จำนวน 1,200 ต้นต่อช่วงฤดู
2) ปลูกในถาดเพาะขนาด 72 ช่อง (8 x 9 ช่อง) โดยใช้วัสดุปลูกตามกรรมวิธี นำถาดหลุมวางบนขั้นวางในโรงเรือนเพาะชำแบบมีหลังคาควบคุมความชื้นในอากาศ และวัสดุปลูกให้สม่ำเสมอ
3) เก็บข้อมูลการรอดตายของต้นสับปะรด การเจริญเติบโตเช่น เส้นผ่านศูนย์กลางต้น จำนวนและความยาวราก ระยะเวลาอนุบาลจนสามารถออกปลูกในแปลงอนุบาล

หมายเหตุ ทำการทดลอง 3 ครั้งในช่วงฤดูหนาว ฤดูร้อนและฤดูฝน และนำข้อมูลที่ได้วิเคราะห์ทางสถิติ

2.2.2 ศึกษาผลของธาตุอาหารที่มีต่อการเจริญเติบโตและความแข็งแรงของต้นกล้าสับปะรดพันธุ์ MD2

ในโรงเรือนอนุบาล

วางแผนการทดลองแบบ RCB 6 กรรมวิธี 4 ซ้ำๆ ละ 40 ต้น

กรรมวิธีที่ 1 ใช้ปุ๋ยทางใบสัดส่วน 4:2:5 ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม

กรรมวิธีที่ 2 ใช้ปุ๋ยทางใบสัดส่วน 4:2:5 ความเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม

กรรมวิธีที่ 3 ใช้ปุ๋ยทางใบสัดส่วน .3:1:5 ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม

กรรมวิธีที่ 4 ใช้ปุ๋ยทางใบสัดส่วน .3:1:5 ความเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม

กรรมวิธีที่ 5 ใช้ปุ๋ยทางใบสัดส่วน 1:1:1 ความเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม

กรรมวิธีที่ 6 ไม่พ่นปุ๋ยทางใบ (Control)

ขั้นตอนและวิธีการ

1) ย้ายปลูกต้นสับปะรดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังอนุบาลได้ 1 เดือน หรือขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางพุ่ม 10 ซม. ลงในแปลงปลูกขนาด 1.2 x 10 เมตร ใช้ระยะปลูก 12 x12 ซม.
2) หลังปลูก 2 สัปดาห์ พ่นปุ๋ยทางใบตามกรรมวิธีสัปดาห์ละ 1 ครั้ง จนอายุ 3 เดือน
3) การบันทึกข้อมูล บันทึกการเจริญเจริญเติบโต เส้นผ่านศูนย์กลางต้น ทุกสัปดาห์ และวัดความยาวรากเมื่อครบ 3 เดือน
4) นำข้อมูลที่ได้วิเคราะห์ทางสถิติ

<u>เวลาและสถานที่</u>

เริ่มต้น ตุลาคม 2557 สิ้นสุด กันยายน 2558

ดำเนินการที่ - สถาบันวิจัยพืชสวน

- ศูนย์วิจัยพืชสวนศรีสะเกษ
- สวนเกษตรกร จ.เพชรบุรี ประจวบฯ และระยอง

ผลการดำเนินงาน

ส่วนที่1 การศึกษาคัดเลือกต้นพันธุ์ดีและตรวจสอบคุณภาพผลสับปะรดพันธุ์ MD2

ได้ทำการคัดเลือกต้นสับปะรด MD2 ที่ให้ผลผลิตที่มีรูปทรงผลตามเกณฑ์ โดยเลือกผลที่มีรูปทรงดี (square shape) น้ำหนักผลมากกว่า 1 กิโลกรัม ความสุกแก่ 25-30% จากแปลงเกษตรกรจังหวัด เพชรบุรี ประจวบฯ และระยอง สถานที่ละ 100 ผล และได้ทำการวิเคราะห์คุณภาพผล พบว่า ผลผลิตจากแปลงเกษตรกรจังหวัดเพชรบุรีน้ำหนักทั้งผลผลเฉลี่ย 1,319.7 กรัม น้ำหนักจุก 191.3 กรัม ความหวานเฉลี่ย 14.6 เปอร์เซ็นต์บริกซ์ กรด 0.71 % และวิตามินซี 51.85 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด ส่วนแปลงจังหวัดประจวบน้ำหนักทั้งผลผลเฉลี่ยประมาณ 1,224.7 กรัม น้ำหนักจุก 184.2 กรัม ความหวานเฉลี่ย 13.4 เปอร์เซ็นต์บริกซ์ กรด 0.79 % และวิตามินซี 46.6 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด ส่วนแปลงจังหวัดระยอง น้ำหนักทั้งผลผลเฉลี่ยประมาณ 1,377.8 กรัม น้ำหนักจุก 225.1 กรัม ความหวานเฉลี่ย 15.5 เปอร์เซ็นต์บริกซ์ กรด 0.62 % และวิตามินซี 52.9 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด ซึ่งขนาดและคุณภาพผลของสับปะรดมีปัจจัยที่สำคัญคือการจัดการธาตุอาหารและน้ำรวมทั้งน้ำหนักต้นเมื่อบังคับดอกซึ่งพบว่าทั้ง 3 แหล่งมีคุณภาพผลแตกต่างกันเล็กน้อย แต่อย่างไรก็ตามจะพบว่าปริมาณวิตามินซีทั้ง 3 พื้นที่เฉลี่ย 50.45 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักสด ซึ่งวิตามินซีค่อนข้างสูงและเป็นลักษณะเด่นประการหนึ่งของสับปะรดพันธุ์นี้(Table 1 and Figure 1)

Table 1 Quality of fresh pineapple cv. MD2 at three locations

Location	Quality of fruit						
	Fruit weight (g)	Crown weight (g)	Skin color	Fresh color	TSS (% brix)	TA (%)	Vitamin C (mg/100 gFW)
Petchaburi	1,319.7	191.3	G138A	Y11A-B	14.6	0.71	51.85
Pachup-kirichan	1,224.7	184.2	G138A	Y11A-B	13.4	0.79	46.60
Rayong	1,377.8	225.1	YO22A-B	YO22A-B	15.5	0.62	52.9
Mean	1,307.4	200.2	-	-	14.5	0.71	50.45

Figure 1 Shape and fresh color of pineapple cv. MD2

<u>ส่วนที่ 2</u> การศึกษาการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ รวมทั้งศึกษาวัสดุเพาะชำและสูตรปุ๋ยที่เหมาะสมในช่วงอนุบาลต้นในเรือนเพาะชำ

2.1 การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2.1.1. การเตรียมชิ้นส่วนพืชสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรด

นำส่วนของจุกจากผลและหน่อจากต้นแม่พันธุ์สับปะรด MD2 ที่ผ่านการคัดเลือกมาลอกเอาใบออก และนำเอาเนื้อเยื่อพืชส่วนเจริญมาทำการฟอก(Figure 2) และนำหน่อปลูกหน่อส่วนหนึ่งในกระถางในโรงเรือนเพื่อใช้ผลิตหน่อที่สะอาดสำหรับนำมาฟอก(Figure 3) โดยมีขั้นตอนดังนี้

1) แช่ชิ้นส่วนพืชใน Alcohol 70% เป็นเวลา 15 นาที(เขย่า)
2) แช่ชิ้นส่วนพืชใน NaOCl 0.9 % โดยใส่ Clorox 8.25% ปริมาตร 12.25 มล. ในน้ำกลั่น 100 มล. +น้ำยาล้างจาน 2 ช้อนชา เป็นเวลา 20 นาที(เขย่า)

3)
Clorox 8.25% ปริมาตร 7.8 มล. ในน้ำกลั่น 100 มล.

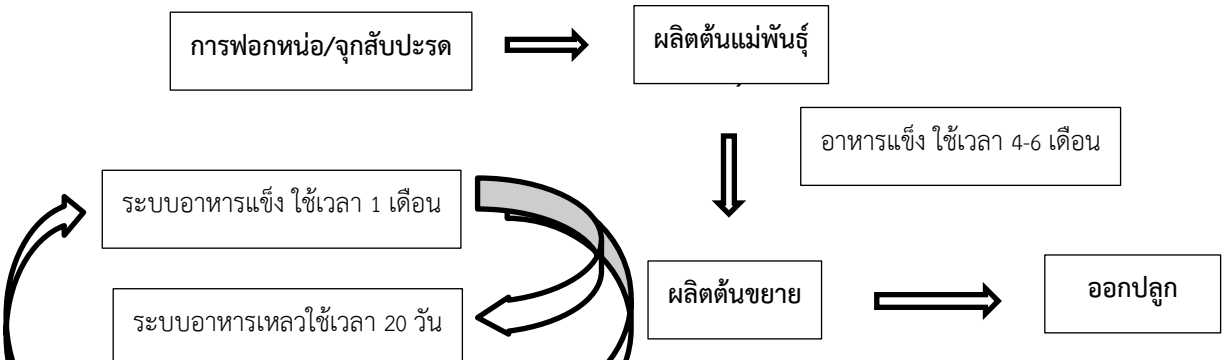
4)

5) มไว้ซึ่งจะได้เป็นต้นแม่พันธุ์สำหรับใช้ในการขยายเพิ่มจำนวน
Figure 4)

Figure 2 Plant materials of pineapple cv. MD2 and prepared for tissue culture

Figure 3 Grow planting material of pineapple cv. MD2 in grass-house to produce new sucker

แผนผังการผลิตสับปะรดพันธุ์ MD2



12)

Figure 4 Diagram of propagation pineapple by tissue culture systems

2.1.2 ขั้นตอนการขยายต้นแม่พันธุ์ และการเพิ่มปริมาณต้น

พบว่าจากการฟอกจุก/หน่อสับปะรดในการสับขยายในรุ่นที่ 1 จะได้ต้นที่ได้มีขนาดใหญ่ประมาณ 10-15 เซนติเมตร แต่ต้นมีการเจริญเติบโตช้าและได้จำนวนต้นน้อยเพียง 1 – 2 ต้นและใช้เวลา 30 วัน ส่วนในการสับขยายครั้งที่ 2 - 5 จะได้ต้นที่มีขนาดต้นเล็กลงและมีการแตกเพิ่ม 3-4 ต้น (ใช้เวลา 20-30 วัน) ในการสับขยายครั้งที่ 6 จะมีขนาดต้นเล็กลงเพียง 5-8 เซนติเมตรและมีการแตกเพิ่มจำนวนมาก (ใช้เวลา 20 วัน) จากผลการดำเนินงานจะเห็นได้ว่าขั้นตอนการขยายแม่พันธุ์เป็นขั้นตอนที่ช้าที่สุดใช้เวลา 5-6 เดือน จึงจะพร้อมนำไปเพิ่มจำนวนต้นในขั้นตอนการผลิตต้นออกปลูก ดังนั้นการเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์ให้ได้จำนวนมากในระยะเวลาที่รวดเร็วขึ้นจะต้องเตรียมต้นแม่พันธุ์ให้พร้อมและมีจำนวนที่เหมาะสม(Table 2 and Figure 5)

ด้านการสับขยายต้นสับปะรดในรุ่นที่ 4-6 ได้ดำเนินการขยายในระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 3 ระบบ คือ ระบบอาหารแข็ง ระบบอาหารเหลวและระบบอาหารเหลวแบบจมชั่วคราว (temporary immersion Bioreactor (TIB)) พบว่าระบบอาหารแข็งได้จำนวนต้นใหม่น้อยสุด 4-10 ต้นในระยะเวลา 10 วัน ส่วนระบบอาหารเหลวได้ 10-20 ต้น สำหรับระบบ TIB จะได้จำนวนต้นมากสุด 20-100 ต้น ในระยะเวลา 30 วัน ซึ่งจะเห็นได้ว่าระบบ TIB จะได้จำนวนต้นมากกว่าการใช้ระบบอาหารเหลวและอาหารแข็งประมาณ 5 และ 10 เท่า ตามลำดับ(Table 3 and Figure 6)

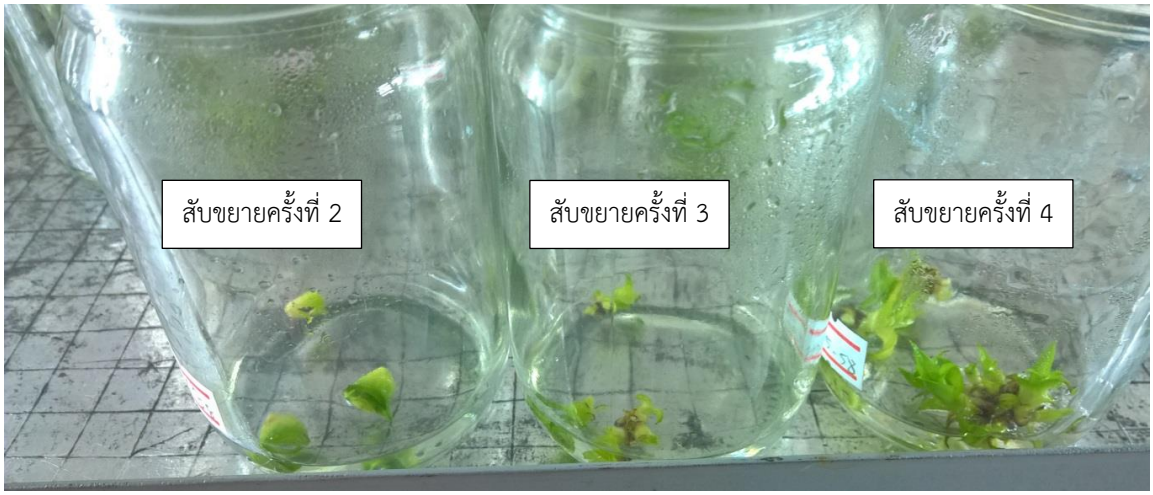
Table 2 Size and number of plantlet of pineapple cv. MD2 after subculture(time)

Items	Times of subculture					
	1	2	3	4	5	6
Size (width of plantlet; cm)	10-15	10-12	10-12	8-10	8-10	5-8

Number of plantlets	1-2	1-2	2-3	2-3	2-3	3-4
Time (day)	30	25-30	20-25	20-25	20-25	20

Table 3 Effect of tissue culture systems on rate and time of new shoot plantlet pineapple cv. MD2

Tissue culture systems	Rate of new shoot (No. of plantlet)	Time (day)	note
1. Solid culture	4-10	20	-simple method -rooting step use agar
2. Liquid culture	10-20	20	-more complex method -more electric value (shaker)
3. Temporary Immersion Bioreactor (TIB))	20-100	30	-most complex -need more cleaning system -high cost of instruments



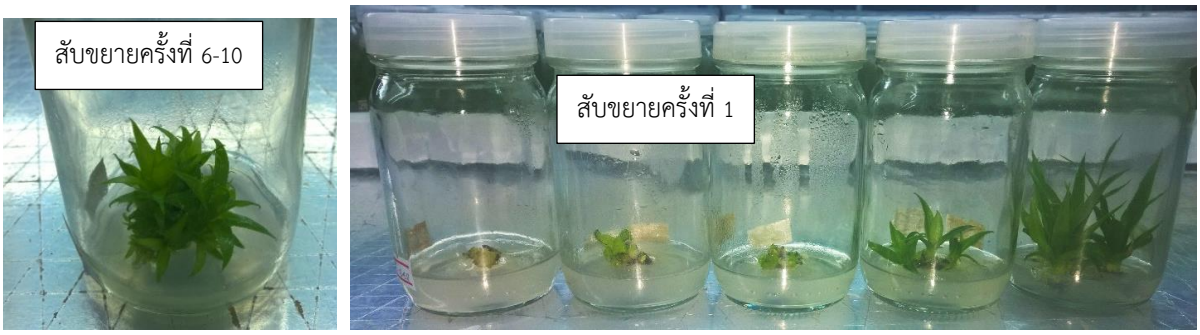


Figure 5 Size and number of new shoot plantlet of pineapple cv. MD2 after subculture (times)

2.1.3 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสม

การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการขยายเพิ่มปริมาณต้นสับปะรดพันธุ์ MD2 ในช่วงแรกจะใช้อาหารแข็งเป็นหลัก (Figure 5 and Figure 6) เนื่องจากมีต้นสับปะรดจำนวนน้อยได้ และพบว่าในช่วงสับขยายต้นสับปะรดในครั้งที่ 1-2 แตกหน่อได้น้อยเพียง 1-2 หน่อ(Table 2) ในการสับขยายหน่อสับปะรดในครั้งที่ 3-4 จึงปรับสูตรอาหารเหมือนกับที่ใช้ในพันธุ์ปัตตาเวีย (อาหารสูตร (MS) ดัดแปลงเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ที่ระดับต่างๆคือ 2 4 6 และ 8 กรัมต่อลิตร พบว่า อาหารสูตร MS ดัดแปลงเติม BA ถึง 8 กรัมต่อลิตร ให้จำนวนหน่อสูงสุดตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 แตกต่างจากสูตรอาหารเดิมอย่างยิ่ง(Table 4)

และจากการใช้สูตรอาหาร MS ดัดแปลงเพิ่ม BA ที่ระดับ 8 กรัมต่อลิตร เป็นสูตรอาหารหลักแต่เมื่อการสับครั้งที่ 5-6 พบว่า ต้นสับปะรดเริ่มชะงักการเจริญเติบโต จึงปรับลดสูตรอาหารมาเป็นอาหารสูตร MS ดัดแปลงเพิ่ม BA ที่ระดับ 2 กรัมต่อลิตร พบว่า มีการแตกหน่อได้ดีดังเดิม

Table 4 Effect of BA on new shoot of plantlet of pineapple cv. MD2

Treatments	Number of new shoot			
	0 week	4 week	5 week	6 week
MS + 2 g BA	1.0	2.0 b	2.0 b	2.0 b
MS + 4g BA	1.0	1.6 b	1.8 b	1.8 b
MS + 6g BA	1.0	2.4 b	2.4 b	2.8 b
MS + 8g BA	1.0	3.8 a	4.6 a	5.4 a
F-test	ns	**	**	**
cv(%)	0	18.25	16.56	18.26

ส่วนในระบบอาหารเหลวใช้สูตรอาหาร MS ดัดแปลงเพิ่ม BA ที่ระดับ 5 กรัมต่อลิตร พบว่า มีการแตกหน่อได้ดี(Figure 7) และการขยายในระบบ TIB ใช้สูตรอาหาร MS ดัดแปลงเพิ่ม BA ที่ระดับ 7 กรัมต่อลิตร ต้นมีการแตกหน่อจำนวนมาก แต่หลังปลูก 1 สัปดาห์ พบว่า ต้นมีอาหารบวมน้ำ (ต้นสับปะรดจะมีขนาดใหญ่ สีอ่อนลง สีต้นใส ฉ่ำ ได้ปรับอาหารใช้สูตรอาหาร MS ดัดแปลงเพิ่ม BA ที่ระดับ 5 กรัมต่อลิตร ต้นมีการแตกหน่อดี แต่หลังปลูก 1 สัปดาห์ เริ่มมีอาหารบวมน้ำ (เช่นเดียวกัน) จึงปรับมาเป็นสูตรอาหาร MS ดัดแปลงเพิ่ม BA ที่ระดับ 2 กรัมต่อลิตร พบว่าต้นโตได้ปกติและต้นมีขนาดต้นใกล้เคียงกัน(Figure 8)

Figure 6 Solid culture system of pineapple cv. MD2

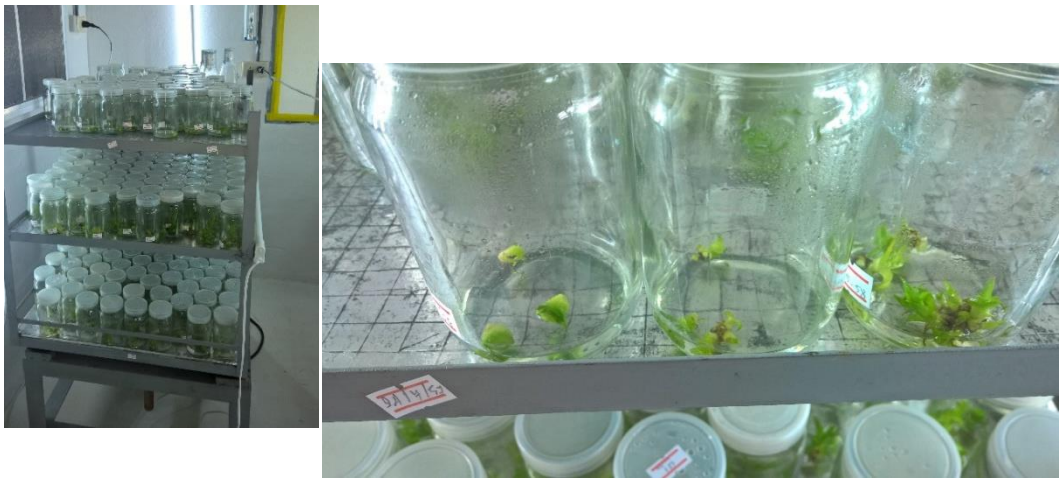


Figure 7 Liquid culture system of pineapple cv. MD2

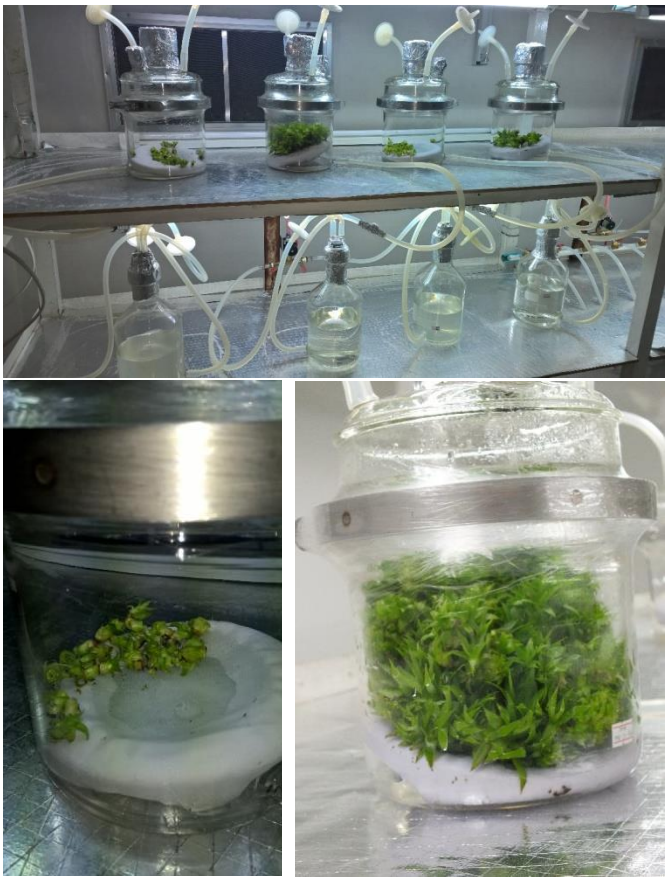


Figure 8 Temporary immersion Bioreactor (TIB) system of pineapple cv. MD2

2.2 ศึกษาการจัดการอนุบาลต้นพันธุ์สับปะรดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ศึกษาวัสดุปลูกที่เหมาะสมในการออกปลูกต้นกล้าสับปะรดพันธุ์ MD2 โดยดำเนินการศึกษาวัสดุปลูกในขั้นตอนการออกปลูกในโรงเรือนอนุบาลโดยนำต้นกล้าจากห้องปฏิบัติการขนาดสูง 3-4 เซนติเมตรชำในถาดหลุม(72 หลุม) โดยได้ทำการศึกษาการนำออกปลูกอนุบาลในช่วงเวลา 3 ช่วงเวลาคือฤดูหนาว ฤดูร้อนและฤดูฝนพบว่า

2.2.1 <u>การออกปลูกในชุดฤดูหนาว (เดือนมกราคม 2558)</u> พบว่าต้นทั้งหมดตาย ซึ่งอาจเกิดจากการต้นสับปะรดพันธุ์ MD2 อ่อนแอต่อโรคเน่ามาก จึงได้นำประสบการณ์ในชุดนี้ได้ใช้ในการออกปลูกในชุดอื่น ๆต่อไป

2.2.2 <u>การออกปลูกในชุดฤดูร้อน (เดือนเมษายน 2558)</u> ได้เพิ่มความเข้มงวดในการควบคุมโรคทั้งวัสดุปลูก และโรงเรือนเพิ่มขึ้น พร้อมเพิ่มระบบพ่นละอองน้ำในโรงเรือน พบว่า ต้นสับปะรดชุดที่ 2 ต้นตายลดลงเพียงร้อยละ 4.2-16.7 โดยขุยมะพร้าว เป็นวัสดุที่มีการตายมากที่สุดร้อยละ 16.7 รองลงมา คือ เส้นใยมะพร้าว และทรายผสมพีสมอสอัตราส่วน 1:1 มีอัตราการตายร้อยละ 4.2

ส่วนกรรมวิธีอื่น ๆ ไม่มีการตาย ซึ่งทั้งนี้อาจเป็นเพราะการใช้ขุยมะพร้าวเป็นวัสดุเพาะชำจะมีการอุ้มน้ำค่อนข้างมาก ทำให้ความชื้นมากจึงมีปัญหาการเน่าตายมากขึ้น (Table 5)

ด้านข้อมูลการเจริญเติบโต

<u>เส้นผ่าศูนย์กลางต้นเฉลี่ย</u> พบว่าหลังการอนุบาลในถาดหลุม 4 สัปดาห์ เส้นใยมะพร้าวและทรายเป็นวัสดุปลูกที่ต้นมีการเจริญเติบโตดีสุด โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางต้นเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 3.05 และ 2.92 เซนติเมตร ตามลำดับ ใกล้เคียงกับทรายผสมขุยมะพร้าวอัตราส่วน 1:1 แต่แตกต่างทางสถิติกับขุยมะพร้าว พีสมอส และทรายผสมพีสมอส อัตราส่วน 1:1 อย่างไรก็ตามถ้าดูเปอร์เซ็นต์ต้นตาย การใช้ขุยมะพร้าวเป็นวัสดุเพาะชำจะมีต้นตายสูงสุด 16.7 % รองมาคือเส้นใยมะพร้าวและทรายผสมพีสมอส ซึ่งมีต้นตายเท่ากันคือ 4.2% ขณะที่การใช้ ทราย พีสมอส และทรายผสมขุยมะพร้าว ไม่พบต้นตาย ดังนั้นทรายและทรายผสมขุยมะพร้าวจึงเป็นวัสดุเพาะชำที่เหมาะสมในช่วงฤดูร้อน(Table 5)

<u>จำนวนรากเฉลี่ย</u> พบว่า ทราย เป็นวัสดุปลูกที่มีจำนวนรากเฉลี่ยมากที่สุด คือ 15.08 เส้น แตกต่างทางสถิติกับพีสม็อส ทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 เส้นใยมะพร้าว ขุยมะพร้าว และทรายผสมพีสม๊อสอัตราส่วน 1:1 ตามลำดับ โดยมีจำนวนราก 12.71 11.83 11.31 10.90 และ 10.58 เส้น ตามลำดับ (Table 6)

<u>ความยาวรากเฉลี่ย</u> พบว่า พีสม็อส เป็นวัสดุปลูกที่มีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด คือ 4.65 เซนติเมตร แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น

เนื่องจากต้นสับปะรดที่ได้ในรุ่นนี้มีขนาดเริ่มต้นแตกต่างกันทำให้มีผลต่อข้อมูลที่ได้หลังการทดลองมาก จึงได้นำข้อมูลก่อนการทดลองมาหาผลต่างจากก่อนทดลองและหลังทดลอง พบว่า เส้นใยมะพร้าว มีผลต่างความกว้างต้นเฉลี่ยก่อนและหลังการทดลองมากที่สุด (Table 5) ทราย มีผลต่างจำนวนราก เฉลี่ยก่อนและหลังการทดลองมากที่สุด (Table 6) และพีสมอส มีผลต่างความยาวรากเฉลี่ยก่อนและหลังการทดลองมากที่สุด (Table 6) ดังนั้นจะเห็นได้ว่า ทราย เป็นกรรมวิธีดีที่สุดในช่วงฤดูร้อน รองลงมาคือ ทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1

Table 5 Effect of growing media on width and percent plantlet died after transplanted 4 weeks at green house in summer season

Treatment	Width of plantlet(cm)			% Plantlet died
	0 week	4 weeks	increased (cm)	
1 Sand	10.05	12.95 a	2.92	-
2 Coir	8.81	11.23 b	1.65	16.7
3 Coir fiber	9.65	12.61 a	3.05	4.2
4 Peat-moss	9.57	11.90 ab	2.30	-
5 Sand and Peat-moss ratio 1:1	8.25	10.00 c	1.92	4.2
6 Sand and coir ratio 1:1	8.02	10.76 bc	2.75	-

F-test	**ns**	*****
CV	**10.46**	**6.59**

Table 6 Effect of growing media on number and length of root of plantlets after transplanted at green house in summer season

Treatment	No. of root			length of root (cm)		
	0 week	4 week	Increased (cm)	0 week	4 week	Increased (cm)
1 Sand	11.71	15.08 a	3.37a	1.87	4.33	2.47
2 Coir	11.83	10.90 b	-1.27e	2.20	3.43	1.23
3 Coir fiber	10.79	11.31 b	0.31bc	2.13	4.61	2.47
4 Peat-moss	12.50	12.71 ab	0.13c	2.12	4.65	2.54
5 Sand and Peat-moss ratio 1:1	10.79	10.58 b	-0.10d	1.62	4.17	2.55
6 Sand and coir ratio 1:1	11.17	11.83 b	0.67b	1.94	3.91	1.98
F-test	**ns**	*****		**ns**	**ns**	
CV	**18.45**	**16.96**		**20.89**	**17.67**	

2.2.3 การย้ายปลูกในเรือนเพาะชำในฤดูฝน (มิถุนายน 2558) พบว่าไม่มีต้นสับปะรดตายในทุกกรรมวิธี ด้านข้อมูลการเจริญเติบโต

<u>เส้นผ่าศูนย์กลางต้น</u> พบว่า การใช้ทรายเป็นวัสดุปลูกให้เส้นผ่าศูนย์กลางต้นเฉลี่ยมากที่สุด 13.75 เซนติเมตร แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใช้ เส้นใยมะพร้าว พีสมอส ขุยมะพร้าว ทรายผสมพีสมอส อัตราส่วน 1:1 และทรายผสมขุยมะพร้าวอัตราส่วน 1:1 เป็นวัสดุปลูกตามลำดับ โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางต้น 13.10 12.50 11.52 11.30 และ 10.52 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 7)

<u>จำนวนรากเฉลี่ย</u> พบว่า การใช้ทรายเป็นวัสดุปลูกมีจำนวนรากเฉลี่ยมากสุด คือ 14.87 เส้น แตกต่างทางสถิติกับเส้นใยมะพร้าว พีสมอส ทรายผสมขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1 ขุยมะพร้าว และทรายผสมพีสมอส อัตราส่วน 1:1 ตามลำดับ โดยมีจำนวนราก 12.94 11.56 11.31 11.06 และ 9.81 เส้น ตามลำดับ (Table 8)

<u>ความยาวรากเฉลี่ย</u> พบว่า เส้นใยมะพร้าว เป็นวัสดุปลูกที่มีความยาวรากเฉลี่ยมากที่สุด คือ 4.65 เซนติเมตร มีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับพีสมอส ทราย ทรายผสมพีสมอสอัตราส่วน 1:1 และขุยมะพร้าว ทรายผสมขุยมะพร้าวอัตราส่วน 1:1 มีความยาวรากเฉลี่ย 5.15 4.78 4.72 4.32 และ 3.67 เซนติเมตร ตามลำดับ (Table 8)

และจากการนำข้อมูลก่อนและหลังการทดลองมาหาผลต่างพบว่า ทราย มีผลต่างความกว้างต้นเฉลี่ย จำนวนรากเฉลี่ยก่อนและหลังการทดลองมากที่สุด (Table 7 และ Table 8) และพีสมอส มีผลต่างความยาวราก

เฉลี่ยก่อนและหลังการทดลองมากที่สุด (Table 8) ดังนั้นจะเห็นได้ว่า ทราย จึงเป็นกรรมวิธีดีที่สุดในช่วงฤดูฝน รองลงมา คือ พีสมอส แต่ต้องระวังการรดน้ำให้พอเหมาะร่วมด้วย

Table 7 Effect of growing media on width and percent plantlet died after transplanted 4 weeks at greenhouse in rainy season

Treatment	Width of plantlet(cm)			% Plantlet died
	0 week	4 week	Increased (cm)	
1 Sand	9.32	13.75 a	4.41	0
2 Coir	9.02	11.52 b	2.49	0
3 Coir fiber	9.46	13.10 ab	3.60	0
4 Peat-moss	9.60	12.50 ab	2.90	0
5 Sand and Peat-moss ratio 1:1	8.22	11.30 bc	2.29	0
6 Sand and coir ratio 1:1	8.23	10.52 c	3.04	0
F-test	**ns**	******		
CV	7.48	**6.93**		

Table 8 Effect of growing media on number and length of root of plantlets after transplanted 4 weeks at greenhouse in rainy season

Treatment	No. of root			length of root (cm)		
	0 week	4 weeks	Increased (cm)	0 week	4 weeks	Increased (cm)
1 Sand	10.52	14.87 a	4.36	2.16	4.78 ab	2.63
2 Coir	11.17	11.06 ab	-0.10	1.95	3.67 b	1.72
3 Coir fiber	10.88	11.56 ab	0.69	2.22	5.20 a	2.94
4 Peat-moss	11.97	12.94 ab	0.97	1.91	5.15 ab	3.24
5 Sand and Peat-moss ratio1:1	11.80	9.81 b	-1.99	1.67	4.72 ab	3.05

6 Sand and coir ratio 1:1	11.42	11.31 ab	-0.10	1.71	4.32 ab	2.61
F-test	**ns**	******		**ns**	*****	
CV	**12.23**	**14.26**		**16.52**	**17.53**	

2.3 ศึกษาผลของธาตุอาหารที่มีต่อการเจริญเติบโตและความแข็งแรงของต้นกล้าสับปะรดพันธุ์ MD2 ในโรงเรือนอนุบาล

<u>ความเส้นผ่านศูนย์กลางต้นเฉลี่ย (เซนติเมตร)</u> พบว่า อัตราส่วนของธาตุอาหาร N P K กับความเข้มขันของธาตุอาหารในแต่ละกรรมวิธีมีความแตกต่างทางสถิติตั้งแต่สัปดาห์ที่ 9 โดยการให้ปุ๋ยอัตราส่วนของธาตุอาหาร N P K ที่ 3:1:5 ที่ระดับความเข้มขัน 200 ppm ที่ 12 สัปดาห์มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางต้นเฉลี่ยมากสุด คือ 22.10 เซนติเมตร แตกต่างกับกรรมวิธีเปรียบเทียบ(น้ำเปล่า) (Table 9)

Table 9 Effect of fertilizer ratios on width of plantlet in green house after transplanted at green house 12 weeks

Treatments	Width of plantlet(cm)											
	week											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. 4:2:5 100 ppm	18.46	18.72	18.45	18.68	18.51	18.63	18.46	18.72	18.45ab	18.68ab	18.51ab	19.63ab
2. 4:2:5 200 ppm	15.80	16.43	15.61	16.13	16.15	16.77	17.29	17.47	17.18ab	17.35ab	17.12ab	18.44ab
3. 3:1:5 100 ppm	18.46	18.72	18.45	18.68	18.51	19.63	19.29	19.59	19.05ab	19.24ab	19.05ab	20.26ab
4. 3:1:5 200 ppm	17.29	17.47	17.18	17.35	17.12	18.44	21.11	21.35	20.58a	21.05a	20.81a	22.10a
5.1:1:1 200 ppm	18.46	18.72	18.45	18.68	18.51	19.63	18.46	18.72	18.45ab	18.68ab	18.51ab	19.63ab
6.Control(น้ำเปล่า)	13.37	13.42	13.76	13.71	13.83	14.00	14.21	14.31	14.41b	14.60b	14.90b	15.31b
F-test	**ns**	**ns**	**ns**	**ns**	**ns**	**ns**	**ns**	**ns**	*****	*****	*****	*****
cv.	**6.03**	**5.44**	**5.18**	**7.10**	**7.05**	**6.88**	**7.18**	**6.13**	**6.22**	**5.67**	**4.58**	**4.09**

<u>จำนวนรากเฉลี่ย</u> ในสัปดาห์ที่ 12 พบว่าการไม่ให้ปุ๋ยมีจำนวนรากมากที่สุด 11.25 ราก แตกต่างทางสถิติกับการให้ปุ๋ยสัดส่วน 4:2:5 100 ppm มีจำนวนราก 8.64 เส้น แต่ไม่ต่างทางสถิติกับกรรมวิธีอื่น ทั้งนี้อาจเนื่องจากการให้ปุ๋ยทางใบส่งเสริมการเจริญทางลำต้น/ใบมากกว่าโดยเฉพาะธาตุไนโตรเจน(Table 10)

<u>ความยาวรากเฉลี่ย</u> ในสัปดาห์ที่ 12 พบว่า อัตราส่วนของธาตุอาหาร N P K ไม่มีผลต่อความยาวราก โดยการไม่ให้ปุ๋ยมีความรากมากที่สุด 14.96 เซนติเมตร ไม่แตกต่างกับกรรมกรรมวิธีอื่น (Table 10)

Table 10 Effect of fertilizer ratios on number and length of root after transplanted at green house in 12 weeks

Treatment	No. of root	Length of root (cm)
1. 4:2:5 100 ppm	8.64 b	11.69
2. 4:2:5 200 ppm	9.18 ab	11.89

3. 3:1:5 100 ppm	10.05 ab	11.97
4. 3:1:5 200 ppm	10.14 ab	14.93
5. 1:1:1 200 ppm	9.29 ab	13.44
6- Control (น้ำเปล่า)	11.25 a	14.96
F-test	*	ns
CV	13.15	11.31

ด้านการเจริญเติบโตของต้นหลังย้ายปลูกจากห้องปฏิบัติการ ลงถาดหลุมและลงในกระบะเพาะชำในเรือนเพาะชำ โดยได้สุ่มชั่งน้ำหนักต้นเมื่อเริ่มออกปลูก หลังออกปลูก 60 วัน และหลังปลูก 120 วัน พบว่า ขนาดของต้นสับปะรดพันธุ์ MD2 มีขนาดเพิ่มขึ้น จาก 1.1 กรัม เป็น 3.9 กรัม และ 22.1 กรัม ตามลำดับ (Table 11)

Table 11 Plant weight after transplanted from laboratory, pot tray and growing in green house

Weight change	after transplanted from laboratory (0 day)	Growing in pot tray in green house (60 days)	Growing in green house (120 days)
weight (g)	1.107	3.955	22.097
Weight increase (time)	1	3.57	19.96

* สุ่มชั่งน้ำหนักแต่ละระยะ ระยะละ 40 ต้น

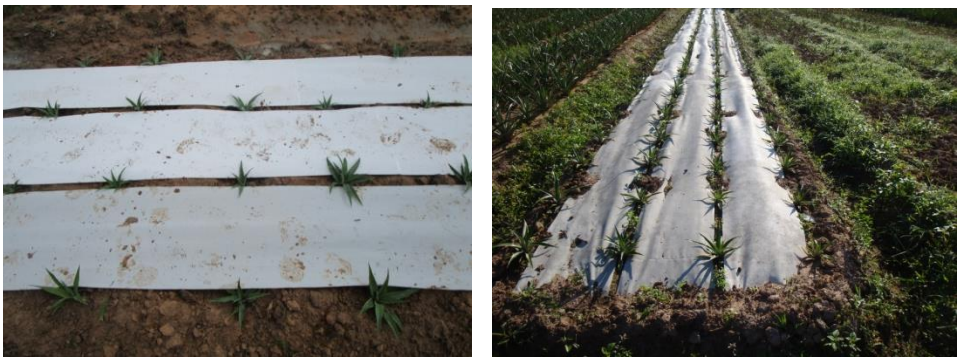


Figure 9 MD2 plantlets were grew in the field and mulching with plastic to protect weed at Srisaket Horticultural Research Centre

ด้านต้นทุนการผลิตรวมทั้ง 2 ระยะ คือระยะที่ขยายเพิ่มจำนวนในห้องปฏิบัติการและระยะอนุบาลในเรือนเพาะชำ พบว่าการใช้ระบบอาหารแข็ง ระบบอาหารเหลว และระบบ TIB ใช้เวลา 150-180 120-150 และ 60-90 วัน

ตามลำดับ และมีต้นทุนเฉลี่ย 11.57 9.3 และ 3.58 บาท/ต้น ตามลำดับ(Table 12) ซึ่งจะเห็นได้ว่าระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรดแบบ TIB มีประสิทธิภาพสูงสุด ใช้เวลาสั้นกว่าและต้นทุนการผลิตต่อต้นถูกกว่า ระบบอาหารเหลวและอาหารแข็ง จึงเป็นระบบที่มีประสิทธิภาพในการนำไปพัฒนาในเชิงพาณิชย์ต่อไป

Table 12 Production costs of tissue culture systems to produce 10,000 plantlets of pineapple cv. MD2

Items	ระบบอาหาร			Notes
	Solid culture	Liquid culture	Bioreactor	
Time(day)	150-180	120-150	60-90	
No. of Flask	1,000	1,000	20	
Labor for subculture (Bath)	7,800	7,800	4,200	Labor cost 300 bath/day
Labor to clean laboratory and flask	900	900	600	
Labor in green house (bath)	15,000	15,000	15,000	
Costs of instruments(bath)	48,000	48,000	4,000	- solid and Liquid cultures 24 bath/l suit used 20 times, Bioreactor 50,000bath/suit+ materials 500 bath/time used 5 times
Cost of medium	14,000	10,800	3,600	Medium 1 l 630 bath use for 200 bottles and 10 plants/bottle, Bioreactor 1 l/time
Electric cost (Bath)	30,000	10,800	3,600	
Total costs/ 10,000 plantlets(bath)	115,700	93,000	35,800	
Cost/plantlets (Bath)	11.57	9.3	3.58	

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์สับปะรดพันธุ์ MD2 โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ จำเป็นต้องเลือกต้นแม่พันธุ์ที่มีลักษณะตรงตามเกณฑ์ที่กำหนด(criteria) ทั้งในด้านรูปทรงผล ขนาดและคุณภาพผล ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจำเป็นต้องเตรียมต้นแม่พันธุ์ให้พร้อมและมีปริมาณที่เพียงพอ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสับปะรดพันธุ์ MD2 พบว่าอาหารสูตร MS เพิ่ม 6-benzylaminopurine (BA) ระดับ 8 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมกับระบบอาหารแข็ง. อาหารสูตร MS เพิ่ม BA ระดับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมกับระบบอาหารเหลว และอาหารสูตร MS เพิ่ม BA ระดับ 7 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมกับระบบอาหารเหลวแบบจมชั่วคราว (TIB) ซึ่งระบบ TIB อัตราการขยายเพิ่มจำนวนต้นได้เร็วกว่าอาหารแข็ง 50 เท่ารวมทั้งเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพสูงสุด ใช้เวลาสั้นกว่า รวมทั้งมีต้นทุนการผลิตต่อต้นถูกกว่า ซึ่งการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชถ้าทำในปริมาณมากต้นทุนการผลิต/หน่วยจะถูกลง ส่วนการอนุบาลต้นสับปะรด MD2 ที่ย้ายจากขวดลงในถาดหลุม(72 หลุม)เมื่อต้นมีความสูง 4-5 เซนติเมตรและมีรากพบว่าทรายเป็นวัสดุปลูกที่ดีที่สุดในช่วงฤดูร้อนและช่วงฤดูฝน สำหรับสูตรปุ๋ยที่ใช้ในการอนุบาลต้นในเรือนเพาะชำพบว่าปุ๋ยสัดส่วน 3:1:5 ความเข้มข้น 200 ppm ให้ต้นเจริญเติบโตดีสุด ด้านต้นทุนการผลิตต้นสับปะรดเพาะเลี้ยง

เนื้อเยื่อตั้งแต่ขันตอนการฟอกและเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการจนได้ต้นพร้อมปลูก(ความสูง 15 เซนติเมตร ทั้ง 3 ระบบ(อาหารแข็ง อาหารเหลว และ TIB) มีต้นทุนเฉลี่ย 11.57 9.3 และ 3.58 บาท/ต้น ตามลำดับ

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

การทดลองนี้ได้คัดเลือกและขยายพันธุ์ต้นสับปะรดพันธุ์ MD2 ซึ่งสามารถนำต้นพันธุ์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนี้ไปปลูกเพื่อเก็บผลผลิตและผลิตหน่อพันธุ์สำหรับเกษตรกรต่อไป รวมทั้งสามารถนำขั้นตอนการขยายพันธุ์สับปะรดโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระบบ TIB นี้ไปพัฒนาและผลิตเชิงพาณิชย์ต่อไป ซึ่งจะทำให้เกษตรกรมีต้นพันธุ์ MD2 ที่เพียงพอและต้นพันธุ์ราคาถูกลง

เอกสารอ้าอิง

เปรม ณ สงขลา 2554. สับปะรด พืชทองของโลก. ในสาระและสรุปการสัมมนาประเทศไทยจะเป็นผู้นำในการส่งออกสับปะรดโลกได้อย่างไร.โดยมูลนิธิมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. รวบรวม สรุปและจัดรูปเล่มโดยเคหการเกษตร. น.12-19.

วรางคณา มากกำไร ทวีศักดิ์ แสงอุดม และมัลลิกา นวลแก้ว. 2557. พันธุ์และการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวที่มีต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาสับปะรดผลสดเพื่อการส่งออก(พันธุ์ MD2 และพันธุ์สวี). รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็ม กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ

Danso, K.E., Ayeh, K.O., Oduro, V., Amiteye, S. and Amoatey, H.M. 2008. Effect of 6-Benzylaminopurine and -Naphthalene Acetic Acid on*In vitro* production of MD2 pineapple planting materials. World Applied. Sciences Journal. 3(4):614-619.

Kiss, E., Kiss, J., Gyulai, G. and Heszky, L.E. 1995. A novel method for rapid micro-propagation of pineapple. Hortsciene. 30(1):127–129.

Pip. 2011. Crop production protocol pineapple MD2. [online] available http://pp.coleacp.org/Pip.