การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันเสา
Tissue Culture of *Dioscorea alata* L.

อุบล สมทรง[1] วรรณา กอวัฒนาวรานนท์[1] และไสว แจ่มแจ้ง[2]

[1]คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี อ.เมือง จ. เพชรบุรี 76000
[2]ศูนย์สาธิตพืชไร่พืชสวนอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ มูลนิธิชัยพัฒนา ต.ท่าแร้ง อ.บ้านแหลม จ.เพชรบุรี 76110

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันเสาซึ่งเป็นพืชพื้นเมืองชนิดหนึ่ง โดยศึกษาตั้งแต่วิธีการฟอกฆ่าเชื้อ อาหารที่ใช้ชักนำยอด อาหารที่ใช้ชักนำราก และการย้ายปลูกในสภาพแปลง ผลการวิจัยพบว่าการฟอกฆ่าเชื้อปลายยอดมันเสาด้วยการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5% 20 นาที ให้ผลดีที่สุดมีการปนเปื้อนเพียง 20% เมื่อนำไปชักนำยอดในอาหาร 8 สูตรซึ่งผสมผงถ่านกัมมันต์ 0.1% อาหารสูตร MS+BAP 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร + IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ให้จำนวนข้อมากที่สุด 4.38 ข้อ ในเวลา 6 สัปดาห์ และอาหารสูตร MS+BAP 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำจำนวนยอดมากที่สุด 2.23 ยอด ในเวลา 8 สัปดาห์ ส่วนการศึกษาสูตรอาหารที่ชักนำรากมันเสา 4 สูตรในเวลา 1 เดือน อาหารทุกสูตรสามารถชักนำรากมันเสาได้ 100% โดยอาหารสูตร MS+NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ให้จำนวนรากมากที่สุด 3.41 ราก และอาหารสูตร MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต ให้ความยาวรากมากที่สุด 5.62 เซนติเมตร สำหรับการย้ายปลูกในสภาพแปลงด้วยวัสดุปลูก 4 ชนิด ในเวลา 2 เดือน วัสดุที่ให้เปอร์เซ็นต์การรอดตายของมันเสา100 % ได้แก่ การใช้ทรายอย่างเดียวและใช้ทรายผสมถ่านแกลบอัตรา 1:1

คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มันเสา พืชพื้นเมือง

Abstract

The native plant, *Dioscorea alata* L. tissue culture was studied in terms of using surface disinfestation, shoot induction medium, root induction medium and transplanting to the field. The result showed that surface disinfestation on shoot tips of *D. alata* L. with sodium hypochlorite 1.5% for 20 minutes was the best condition which resulted only 20% contamination. All shoot induction media were mixed with 0.1 % activated charcoal. Among 8 studied media , MS+BAP 1.5 mg/L + IAA 0.5 mg/L produced the highest number of node (4.38 nodes) in 6 weeks. After 8 weeks, MS+ BAP 1.0 mg/L induced the highest amount of shoot (2.23 shoots). All the four studied formula of root media was able to induce the root formation in one month. The media, MS + NAA 0.5 mg/L was found to produce the highest number of roots (3.41 roots) while MS without growth regulator yielded the longest root (5.62 c.m.). Regarding survival percentage measured two months after transplanting the plants to the field in four types of growth material, was found 100 % survive when planted in sand or in a mixture of sand and rice husk charcoal (1:1).

Keywords: Tissue culture, *Dioscorea alata* L., Native plant

บทนำ

ความหลากหลายทางชีวภาพของโลกโดยเฉพาะด้านพันธุ์พืชกำลังลดลงอย่างมากตามจำนวนป่าไม้ที่ถูกทำลาย ทำให้เหลือพื้นที่ป่าน้อยลง ประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งที่เหลือพื้นที่ป่าไม้ไม่ถึงร้อยละ 30 ของพื้นที่ประเทศ [1] ประกอบกับระบบปลูกพืชในปัจจุบันส่วนใหญ่เป็นการปลูกแบบเชิงเดี่ยว ทำให้พันธุ์พืชอื่นๆ ที่ไม่ใช่พืชปลูก เช่น พืชดั้งเดิมหรือพืชพื้นเมือง พืชที่นำมาใช้เชิงเศรษฐกิจน้อย ถูกทอดทิ้งหรือถูกทำลายไป ถ้าไม่มีการอนุรักษ์หรือนำพืชเหล่านี้มาขยายพันธุ์เพิ่มจำนวน จะทำให้พันธุ์พืชสูญหายไป แหล่งในการคัดเลือกพันธุ์พืชเพื่อใช้ประโยชน์ด้านอาหาร เครื่องนุ่งห่ม ยารักษาโรค ที่อยู่อาศัย ตลอดจนวัตถุดิบด้านอุตสาหกรรมย่อมน้อยลงไปด้วย [2] และในอนาคตอาจเกิดวิกฤตด้านพืชอาหาร หรือพืชที่ใช้ประโยชน์ด้านอื่นๆ ถูกทำลายจากศัตรูพืชได้ง่ายขึ้นเพราะพืชจะมีฐานทางพันธุกรรมที่แคบลง ดังนั้นจึงสมควรนำพืชพื้นเมืองต่างๆ มาศึกษาการขยายพันธุ์เพิ่มจำนวนเพื่อใช้ประโยชน์ต่อไป

มันเสา (winged yam, greater yam, white yam) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Dioscorea alata* L. มีชื่ออื่นๆ อีกคือ มันหลวง มันหวาย เป็นต้น ซึ่งอยู่ในวงศ์ Dioscoreaceae [3-5] เป็นไม้เถาไม่มีเนื้อไม้ มีหัวใต้ดิน เช่นเดียวกับกลอย ลำต้นเป็นเถามักจะยาวเลื้อยไปตามต้นไม้ได้สูงและไกลซึ่งอาจมีความยาวได้ถึง 16 เมตร ใบเป็นใบเดี่ยวรูปหัวใจ มีก้านใบยาวออกตรงกันข้าม มีเส้นใบออกจากฐานใบหลายเส้นยาวไปถึงปลายใบ (Figure 1A) เนื้อใบบาง ช่อดอกห้อยลง ดอกขนาดเล็กค่อนข้างแน่น ดอกเพศผู้แบบ panicle มีกลิ่นหอมแรงกว่าดอกเพศเมีย ซึ่งเป็นแบบ spike ผลแห้งแบบแคปซูลมี 3 ซีก สันนิษฐานว่ามีถิ่นดั้งเดิมในประเทศไทยหรือพม่า แล้วจึงแพร่ไปทั่วเอเชีย หัวมีรูปทรงต่างกันออกไปทั้งแบบยาวตรง กลมรี (Figure 1B) นิ้วมือ ตัวยู เป็นต้น ซึ่งเคยมีการค้นพบถึง 72 แบบ จึงเรียกชื่อไปตามลักษณะหัว มันเสามีทั้งคาร์โบไฮเดรต และโปรตีนสูงกว่ามันชนิดอื่นๆ อีกทั้งยังมีฟอสฟอรัส แคลเซียม และเบต้าแคโรตีน [4,6,7] ในประเทศไทยมีการนำมาทำอาหารได้หลายแบบ เช่น ต้มย่างจิ้มน้ำตาล ต้มน้ำตาลแกงบวด หรือแกงเลียงปลาย่าง นอกจากนี้ยังมีสรรพคุณเป็นสมุนไพร เช่น ใช้ขับพยาธิ รักษาโรคเรื้อน ริดสีดวงทวาร รับประทานหลังฟื้นไข้จากอาการไอเป็นเลือด โรคไตและม้ามอักเสบ [8-9] ในต่างประเทศมีรายงานว่ามันเสามีแหล่งกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ [10] พบทั่วไปในเขตร้อนของอเมริกาใต้ อาฟริกา ออสเตรเลีย และสเปน ในอเมริกามีการนำเข้าไปปลูกเป็นไม้ประดับจากพ่อค้าชาวโปรตุเกสและสเปน ใช้เป็นพืชอาหาร เช่น นำไปทำขนมหวาน ไอศกรีม สวิสโรลทาร์ต คุกกี้ เค้ก และขนมอบอื่นๆ ใช้เป็นยาพื้นบ้านในการระบายและขับพยาธิ แก้ไข้ โกโนเรีย เรื้อน เนื้องอก แผลอักเสบ [5] ในประเทศฟิลิปปินส์รายงานพบสารฟินอลิกมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ มีโปรตีนไดออสโครีน (dioscorin) ช่วยควบคุมความดัน รักษาโรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกันและมะเร็ง เป็นต้น [11]

มันเสาเจริญเติบโตบนดินร่วนปนทรายตามชายเขาหรือริมธารน้ำ ส่วนการขยายพันธุ์หรือการปลูกมันชนิดนี้ส่วนใหญ่ยังไม่มีการปลูกอย่างจริงจัง มักจะเก็บหัวตามป่าซึ่งขยายพันธุ์โดยเมล็ด [12] จากประสบการณ์ของผู้วิจัยได้นำส่วนหัวใต้ดินมาเพาะในกระถางทราย รดน้ำให้ชุ่มวันละ 1–2 ครั้ง หัวจะสามารถงอกเป็นต้นใหม่ได้โดยใช้เวลาประมาณ 7–10 วัน แต่ปัจจุบันมันเสาลดจำนวนลงมาก เนื่องจากพื้นที่ป่าถูกทำลายเพื่อการเพาะปลูกพืชอาหาร และคนรุ่นหลังไม่ทราบถึงประโยชน์ของพืชชนิดนี้ จึงตัดทิ้งหรือขุดทิ้งไป ทำให้มีจำนวนน้อยลงและมีแนวโน้มจะสูญพันธุ์ได้ ดังนั้นการวิจัยนี้จึงนำมันเสามาศึกษาการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เนื่องจากเป็นวิธีการขยายพันธุ์ที่ทำให้ได้พืชจำนวนมากในเวลาอันรวดเร็วและยังไม่มีการศึกษามาก่อนในมันเสา แต่มีการศึกษามาบ้างแล้วในกลอยซึ่งเป็นพืชสกุลเดียวกันโดย [13] ซึ่งถ้าสามารถขยายพันธุ์มันเสาด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้สำเร็จจะช่วยการเพิ่มจำนวนในธรรมชาติให้มากขึ้น นอกจากนั้นยังสามารถรักษาพันธุ์โดยไม่เปลืองพื้นที่และสามารถนำมาเพิ่มจำนวนได้ทันเมื่อมีความต้องการใช้ในอนาคต

Figure 1. *Dioscorea alata* L. planted in growth material . (A) stem and leaves, (B) tuber

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

แบ่งการศึกษาเป็น 4 การทดลองดังนี้คือ

1. ศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อมันเสา โดยนำหัวมันเสามาเพาะในกระถางทราย รดน้ำให้ชุ่มพอดีทุกวัน จนงอกเป็นเถาใหม่ ตัดปลายเถาหรือปลายยอดขนาดประมาณ 4-5 ซม. มาล้างน้ำสบู่ซันไลท์เอาคราบฝุ่นละอองออก แช่น้ำยากันรา 10 นาที ล้างด้วยน้ำสะอาด จากนั้นถึงนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ คือ ใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที ใช้ สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% 10 นาที และ 0.5% 5 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น นึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที ใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที ใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5 % 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที และใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5% 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที ทุกวิธีการหยด ทวีน–20 ในขวดฟอกฆ่าเชื้อ 2–3 หยด

มีการวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ใช้วิธีการฟอกฆ่าเชื้อเป็นสิ่งทดลอง (5 สิ่งทดลอง) แต่ละสิ่งทดลองมี 4 ซ้ำ ๆ ละ 5 ขวด แต่ละขวดใช้ส่วนตายอด หรือตาข้าง 1 ชิ้น จากนั้นจึงตัดชิ้นส่วนเป็นท่อนขนาด 0.5–1.0 ซม. ให้แต่ละท่อนมีตาข้างหรือตายอดอย่างน้อย 1 ตา นำไปวางเลี้ยงบนชั้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอุณหภูมิ 25–28 องศาเซลเซียส ให้แสงความเข้ม 1,000–3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 14 ชั่วโมงต่อวัน ตรวจผลโดยนับเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเนื้อเยื่อหลังจากฟอกฆ่าเชื้อเวลา 7 14 21 และ 30 วัน นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ F-Test และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

2. ศึกษาสูตรอาหารชักนำยอดมันเสา วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยใช้สูตรอาหารเป็นสิ่งทดลอง 8 สูตร หรือ 8 สิ่งทดลอง ทำสิ่งทดลองละ 4 ซ้ำๆ ละ 5 ขวด นำยอดมันเสาที่รอดจากการฟอกฆ่าเชื้อในการทดลองที่ 1 มาตัดเป็นข้อๆ ให้มีตาติดมา 1 ตา แล้วนำไปเลี้ยงในอาหารสูตรต่างๆ ขวดละ 1 ชิ้น คือ สูตร 1 อาหาร MS ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต สูตร 2 อาหาร MS+BAP 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร สูตร 3 อาหาร MS+BAP 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร สูตร 4 อาหาร MS+BAP 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร สูตร 5 อาหาร MS+BAP 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร สูตร 6 อาหาร MS+BAP 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร + IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร สูตร 7 อาหาร MS+BAP 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร + IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร และ สูตร 8 อาหาร MS+BAP 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร + IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร แต่ละสูตรเติมผงถ่านกัมมันต์

(activated charcoal) 0.1% เนื่องจากการศึกษาเบื้องต้นของผู้วิจัย พบว่าชิ้นส่วนของมันเสาสร้างสารสีน้ำตาลหลังเลี้ยงในอาหารที่ไม่ใส่ผงถ่านทำให้ต้นชะงักการเจริญ ทำการบันทึกการเจริญและการพัฒนาหลังการเพาะเลี้ยง นับจำนวนยอด และนับจำนวนข้อ เมื่อเลี้ยงไปประมาณ 6–8 สัปดาห์ นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วย F–Test และวิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

3. ศึกษาสูตรอาหารชักนำรากมันเสา วางแผนการทดลองแบบ CRD ใช้สูตรอาหารชักนำรากเป็นสิ่งทดลองจำนวน 4 สิ่งทดลอง แต่ละสิ่งทดลองมี 4 ซ้ำๆ ละ 5 ขวด แต่ละขวดใช้ชิ้นส่วนข้อลำต้นยาวประมาณ 1.5–2.0 เซนติเมตร จำนวน 2 ชิ้น โดยมีสิ่งทดลอง คือ สูตร 1 อาหาร MS ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต สูตร 2 อาหาร MS+NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร สูตร 3 อาหาร MS+NAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร และสูตร 4 อาหาร MS+NAA 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร โดยทุกๆสูตรใส่ผงถ่านกัมมันต์ 0.1%

หลังจากเพาะเลี้ยงและบันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดราก จำนวนราก และความยาวราก หลังเพาะเลี้ยงไปประมาณ 1 เดือน นำค่าเฉลี่ยดังกล่าวไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้ F-Test และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

4. ศึกษาการย้ายปลูกมันเสาในสภาพธรรมชาติ โดยนำขวดเพาะเลี้ยงต้นมันเสาที่ออกรากดีแล้วไปปรับสภาพอุณหภูมิและความชื้น โดยวางขวดนอกห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประมาณ 1 สัปดาห์ นำต้นมันเสาออกมาล้างวุ้นที่รากออกให้หมด นำไปทดลองปลูกในถุงวัสดุปลูกต่างๆ กัน โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD มี 4 สิ่งทดลองๆ ละ 4 ซ้ำๆ ละ 10 ถุงๆ ละ 1 ต้น สิ่งทดลองใช้วัสดุปลูก คือ ทรายอย่างเดียว ทรายผสมถ่านแกลบอัตราส่วน 1:1 ทรายผสมขุยมะพร้าวอัตราส่วน 1:1 และถ่านแกลบอย่างเดียว

หลังย้ายปลูกในถุงวัสดุต่างๆ รดน้ำให้ชุ่ม ทำกระโจมควบคุมความชื้นประมาณ 2-4 สัปดาห์ นับเปอร์เซ็นต์การรอดตายของกล้ามันเสาหลังย้ายปลูก 1 และ 2 เดือน นำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ F-Test และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT และนำไปปลูกในแปลงธรรมชาติที่โครงการศูนย์สาธิตพืชไร่พืชสวนอันเนื่องมาจากพระราชดำริ อ.บ้านแหลม จ.เพชรบุรี และวิทยาเขตโป่งสลอด อ.บ้านลาด จ.เพชรบุรี

Table 1 Percents contamination of *Dioscorea alata* L. after using different disinfection methods for 7 14 21 and 28 days.

Treatment	Days after using disinfection methods			
	7	14	21	28
1. 10 minutes in 1.0 % sodium hypochlorite	50	70	85[a]	85
2. 10 minutes in 1.0 % sodium hypochlorite + 5 minutes in 0.5 % sodium hypochlorite	30	50	55[ab]	80
3. 15 minutes in 1.0 %sodium hypochlorite 1.0%	40	45	50[ab]	55
4. 10 minutes in 1.5 % sodium hypochlorite	55	60	60[ab]	70
5. 20 minutes in 1.5 % sodium hypochlorite	20	20	20[b]	40
F-test	ns	ns	*	ns
CV. (%)	54.19	58.44	47.33	41.77

*Means followed by different superscript in each column differs significantly by Duncan's multiple range test (P<0.05)

Figure 2. Shoot development from lateral node after surface disinfestation for 10 days.

ผลการศึกษา

1. ผลการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อของมันเสา จากการฟอกฆ่าเชื้อปลายยอดมันเสาด้วยสารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 5 วิธีการ เมื่อตรวจร้อยละการปนเปื้อนของมันเสาหลังฟอกฆ่าเชื้อเป็นเวลา 7 14 21 และ 28 วัน พบว่ามันเสาที่ฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5% เป็นเวลา 20 นาที จะให้ผลดีที่สุดโดยจะมีร้อยละการปนเปื้อนน้อยที่สุด โดยหลังการฟอกฆ่าเชื้อ 21 วัน มีการปนเปื้อน 20% รองลงมา คือ การใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% 15 นาที การใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% 10 นาที และ 0.5% 5 นาที การใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5% 10 นาที และใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.0% 10 นาที ซึ่งมีการปนเปื้อน 50 55 60 และ 85% ตามลำดับ โดยต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) แต่ร้อยละการปนเปื้อนหลังฟอกฆ่าเชื้อที่ 7 14 และ 28 วัน ไม่ต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) (Table 1, Figure 2)

2. ผลการศึกษาสูตรอาหารชักนำยอดมันเสา หลังการเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำยอด 8 สูตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ อาหารสูตร MS+BAP 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร + IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ให้จำนวนข้อเฉลี่ยมากที่สุดคือ 4.38 ข้อ รองลงมาคือสูตร MS+BAP 2.0 มิลลิกรัม/ลิตร ให้จำนวนข้อเฉลี่ย 3.0 ข้อ ส่วนสูตรอื่นๆ ให้จำนวนข้อเฉลี่ยอยู่ในช่วง 2.38-2.83 ข้อ โดยแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.01$) แต่หลังการเลี้ยง 8 สัปดาห์ สูตรอาหารที่ให้จำนวนข้อมากที่สุด คือ MS+BAP 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร ให้จำนวนข้อ 5.80 ข้อ รองลงมาคือ MS+BAP 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร ให้จำนวนข้อ 5.40 ข้อ ส่วนสูตรที่เหลือให้จำนวนข้อ 2.45-5.08 ข้อ โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

ส่วนสูตรอาหารที่ชักนำให้จำนวนยอดมากที่สุดในสัปดาห์ที่ 6 คือสูตร MS+BAP 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร + IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร เฉลี่ย 1.65 ยอด รองลงมา คือ สูตร MS+BAP 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร + IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ให้จำนวนยอดรวมเฉลี่ย 1.48 ยอด ส่วนสูตรอื่นๆ ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 1.08-1.40 ยอด แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ สัปดาห์ที่ 8 สูตรอาหารที่ชักนำยอดรวมได้มากที่สุดคือสูตร MS+BAP 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร เฉลี่ย 2.23 ยอด รองลงมา คือ สูตร MS+BAP 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร และ MS+BAP 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร + IAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร โดยให้จำนวนยอดรวมเฉลี่ย 1.85 และ 1.78 ยอดตามลำดับ ส่วนสูตรอื่นๆ ให้จำนวนยอดรวมเฉลี่ย 1.38-1.70 ยอด โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (Table 2, Figure 3)

Table 2 Mean number of nodes and shoots of *Dioscorea alata* L. after cultured on eight shoot inducing media for six and eight weeks.

Treatment	No. of nodes		No. of shoots	
	6 weeks	8 weeks	6 weeks	8 weeks
1.MS without plant growth regulator	2.73^{c}	3.53^{cd}	1.38	1.45^{b}
2. MS – BAP 0.5 mg/L	2.38^{c}	3.93^{cd}	1.08	1.38^{b}
3. MS – BAP 1.0 mg/L	2.83^{c}	5.40^{ab}	1.40	2.23^{a}
4. MS – BAP 1.5 mg/L	2.70^{c}	5.60^{a}	1.10	1.85^{ab}
5. MS – BAP 2.0 mg/L	3.00^{c}	3.78^{cd}	1.08	1.45^{b}
6. MS – BAP 0.5 mg/L – IAA 0.5 mg/L	2.50^{c}	2.45^{e}	1.65	1.70^{ab}
7. MS – BAP 1.5 mg/L – IAA 0.5 mg/L	4.38^{a}	5.03^{a}	1.48	1.78^{ab}
8. MS – BAP 2.0 mg/L – IAA 0.5 mg/L	2.83^{c}	4.13^{bc}	1.40	1.40^{b}
F test	**	**	ns	*
CV. (%)	16.83	16.32	20.06	19.26

*Means followed by different superscript in each column differs significantly by Duncan's multiple range test (P<0.05)

**Means followed by different superscript in each column differs high significantly by Duncan's multiple range test (P<0.01)

ns = non significant

Figure 3. Shoot development after cultured on MS+BAP 1.5 mg/L. for eight weeks

3. ผลการศึกษาสูตรอาหารชักนำรากมันเสา

หลังจากนำชิ้นส่วนข้อลำต้นมันเสาที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อมาเลี้ยงในอาหารสูตรชักนำราก 4 สูตร เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าอาหารทุกสูตรชักนำรากได้ โดยสูตรอาหารที่ชักนำได้จำนวนรากมากที่สุดคือ สูตร MS+NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร (3.41 ราก) รองลงมาคือสูตร MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต และสูตร MS+NAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร (2.75 และ 2.20 ราก ตามลำดับ) ส่วนสูตรอาหารที่ชักนำรากมันเสาแล้วให้ความยาวมากที่สุดคือสูตร MS ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต มีความยาวราก 5.62 เซนติเมตร รองลงมาคือสูตร MS+NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร และ MS+NAA 1.0 มิลลิกรัม/ลิตร มีความยาวราก 3.67 และ 2.45 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) (Table 3, Figure 4)

4. ผลการศึกษาการย้ายปลูกมันเสาในสภาพแปลง หลังจากนำต้นมันเสาที่ออกรากแล้วย้ายออกปลูกในวัสดุปลูก 4 ชนิด เป็นเวลา 2 เดือน พบว่าการย้ายปลูกในวัสดุ คือทรายอย่างเดียว และทรายผสมถ่านแกลบอัตราส่วน 1:1 มีการรอดตาย 100% ส่วนการย้ายปลูกในทรายผสมขุยมะพร้าว มีการรอดตาย 95% และการย้ายปลูกในถ่านแกลบอย่างเดียว มีการรอดตาย 92.5% (Table 4) และเมื่อนำต้นที่รอดตายจากวัสดุเหล่านี้ไปปลูกในแปลงของศูนย์สาธิตพืชไร่พืชสวนอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ และวิทยาเขตโป่งสลอด พบว่ามันเสาเจริญได้ดีในวิทยาเขตโป่งสลอด (Figure 5) แต่ต้นที่ปลูกในศูนย์สาธิตพืชไร่พืชสวนอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ การเจริญเติบโตไม่ดีและตายไปในที่สุด

Table 3 Mean number of roots per plantlet and root length (c.m.) of *Dioscorea alata* L. after cultured on four rooting inducing media for one month.

Treatment (medium)	No. of roots	Root length (c.m.)
1. MS without growth regulator	2.75 [a**]	5.62 [a]
2. MS+NAA 0.5 mg/L	3.41 [a]	3.67 [b]
3. MS+NAA 1.0 mg/L	2.20 [b]	2.45 [c]
4. MS+NAA 2.0 mg/L	1.30 [c]	1.82 [c]
F-test	**	**
CV. (%)	17.62	25.82

**Means followed by different superscript in each column differs highly significantly by Duncan's multiple range test ($P<0.01$)

*Means followed by different superscript in each column differs significantly by Duncan's multiple range test ($P<0.05$)

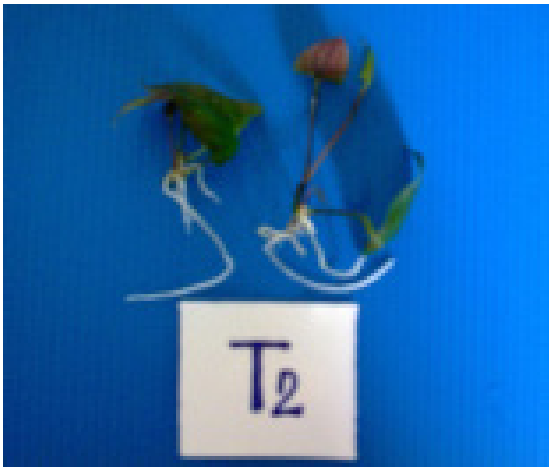

Figure 4. Plantlets with roots after cultured on MS+NAA 0.5 mg/L for one month.

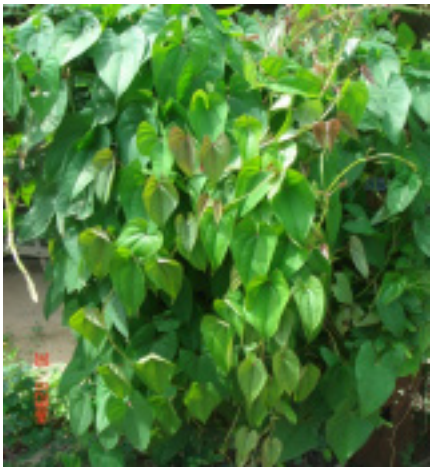

Figure 5. Growth and development of *Dioscorea alata* L. after planting on Pongsalo campus for two months.

อภิปรายผล

จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันเสาจะเห็นได้ว่าสูตรอาหารที่ชักนำจำนวนยอดมากที่สุดคือ สูตร MS+BAP 1.0 มิลลิกรัม/ ลิตร ซึ่งให้จำนวนยอด 2.23 ยอด และเมื่อเพิ่มปริมาณ BAP เป็น 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร จำนวนยอดจะลดลงเป็น 1.85 ยอด สอดคล้องกับการทดลองของไพโรจน์ ทับพงษ์ (2543) ที่ทดลองเลี้ยงตาข้างของกลอย (Dioscorea hispida Dennst) ซึ่งเป็นพืชสกุลเดียวกับมันเสา ในอาหารสูตร MS ที่ผสม BAP ตั้งแต่ 1.5-3.0 มิลลิกรัม/ลิตร พบว่าอาหารสูตร MS+BAP 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร ชักนำยอดได้สูงสุด 1.33 ยอดในเวลา 8 สัปดาห์ แต่เมื่อใช้ BAP ปริมาณสูงขึ้น จำนวนยอดจะลดลงเช่นเดียวกัน และทำนองเดียวกันอาหารสูตร MS+BAP 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร จะให้จำนวนข้อของกลอยและมันเสามากหรือยาวที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตร MS+BAP ที่มากกว่าหรือน้อยกว่า 1.5 มิลลิกรัม/ลิตร [13]

ส่วนการย้ายปลูกมันเสาในวัสดุชนิดต่างๆ ในช่วงแรกจะมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายไม่แตกต่างกันมากนัก แต่เมื่อใช้เวลานานขึ้นเป็น 2 เดือน การย้ายปลูกในถ่านแกลบจะมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายน้อยที่สุด ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่าถ่านแกลบเป็นวัสดุที่ร่วนซุยระบายน้ำได้ดีมาก ทำให้แห้งเร็วปริมาณน้ำอาจไม่เพียงพอในการเจริญเติบโตของพืช เมื่อลำต้นมีการเจริญเติบโตมากขึ้นจะมีความต้องการน้ำและธาตุอาหารมากขึ้น ประกอบกับปริมาณธาตุอาหารในถ่านแกลบจะมีอยู่น้อยเมื่อเทียบกับวัสดุปลูกที่มีทรายหรือดินปนทรายซึ่งอุ้มน้ำมากกว่าและมีความอุดมสมบูรณ์ มีค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมกับการละลายของธาตุอาหาร (pH ประมาณ 5.5-6.5) ต่างจากถ่านแกลบซึ่งมีธาตุอาหารจำเป็นค่อนข้างน้อย และค่า pH ประมาณ 6.0-6.8 [14,15] และถ้าเป็นถ่านแกลบใหม่จะมี pH ประมาณ 8.72 [16] ซึ่งไม่เหมาะในการละลายของธาตุอาหารที่พืชจะนำไปใช้ได้ เมื่อพืชได้รับน้ำและธาตุอาหารไม่เพียงพอจึงมีการเจริญเติบโตไม่ดีและตายไปในที่สุด และเมื่อนำต้นมันเสาที่รอดตายในวัสดุปลูกชนิดต่างๆ ไปปลูกในแปลงสภาพธรรมชาติที่โครงการศูนย์สาธิตพืชไร่พืชสวนอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ และวิทยาเขตโป่งสลอด มันเสามีการรอดตาย 100% ในสภาพพื้นที่วิทยาเขตโป่งสลอด แต่ในพื้นที่ศูนย์สาธิตพืชไร่พืชสวนอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ ต้นมันเสาค่อยๆ ตายไป อาจเนื่องมาจากในพื้นที่ศูนย์พืชไร่พืชสวน

อันเนื่องมาจากพระราชดำริฯมีลักษณะเนื้อดินเป็นดินเหนียวการระบายน้ำไม่ดีและค่อนข้างเป็นดินเค็ม มีน้ำขังเป็นบางช่วงเวลา จึงทำให้หัวมันเสาค่อยๆ ตายไปในที่สุด สอดคล้องกับรายงานของไม้ดอกหอมของไทย [12] ที่รายงานว่ามันเสาเจริญเติบโตบนดินร่วนปนทรายตามชายเขาหรือริมธารน้ำ และไม่มีรายงานเจริญในสภาพพื้นที่ที่เป็นดินเหนียวและมีน้ำขัง

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาการเจริญเติบโตของมันเสาและการสร้างหัวใต้ดินในพื้นที่ต่างๆ กัน หรือในวัสดุที่แตกต่างกัน เพื่อเป็นข้อมูลในการนำไปส่งเสริมการปลูกในเชิงพาณิชย์ในโอกาสต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จได้โดยได้รับเงินสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

เอกสารอ้างอิง

1. สำนักแผนงานและสารสนเทศ. ข้อมูลและสถิติกรมป่าไม้ 2554. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก : http://www.forestinfo. Forest.go.th./content/file/ebook 2554.pdf. 2555.
2. อุบล สมทรง. 2540. ความหลากหลายทางชีวภาพและการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช. *วารสารวิทยาศาสตร์.* ฉบับสัปดาห์แห่งชาติ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏเพชรบุรี : 78-84.
3. เต็ม สมิตินันทน์. 2523. *ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย (ชื่อพฤกษศาสตร์–ชื่อพื้นเมือง).* กรุงเทพฯ : ฟันนี่พับลิชชิง.
4. นิรนาม. แยม มันพื้นบ้าน [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก : http://www.paktho.ac.th/student/m62549/usa/potato%html.html. 2550.
5. University of Georgia. *Dioscorea alata* L. [Online]. Available : http://en.wikipedia.org/wiki/Dioscorea alata. 2012.
6. ก่องกานดา ชยามฤต. 2541. *คู่มือจำแนกพรรณไม้.* กรุงเทพฯ : ไดมอนด์ พริ้นติ้ง จำกัด.
7. Langeland, K. A. and Cherry, H.M. Identification and Biology of Nonnative Plants in Florida Natural Areas,2nd edition. [online]. Available : http://www. Fleppc.org/id_book Dioscorea alata pdf. 2012.
8. ชุมชนบ้านเขาดิน. ความหลากหลายและการใช้ประโยชน์พรรณพืชและสมุนไพรในป่าชุมชนบ้านเขาดิน[ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก : http://www.nsru.ac.th/sciene/project/web/varied1.htm. 2550.
9. นิรนาม. ตำรับยาไทย [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก : http://trai.sci.ku.ac.th/modes/2grupivo6iydK556. 2554.
10. Anonymous.(2012). Flora of North America. [Online]. Available : http://www.eoras.org/ora taxon.aspc.ora__id=i&taxon__id200088084. 2012.
11. Anonymous. Philippine Medicinal Plants. [Online]. Available : http://stuartxchange.com/Ubi.html. 2011.
12. ไม้ดอกหอมของไทย. สารานุกรมสำหรับเยาวชนฯ เล่ม 22 [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก : http://kanchanapisek.or.th/kp6/Book22/chapter4/fzz-4-14.htm#sect2. 2550.
13. ไพโรจน์ ทับพงษ์. 2543. *การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกลอย.* ปัญหาพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต. สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี.
14. สำนักสำรวจทรัพยากรดิน. ลักษณะและสมบัติของชุดดินภาคกลาง ชุดดินเพชรบุรี. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.ildd.go.th/thaisoils__museum/pf__desc/central/pb. 2555.

15. อิทธิสุนทร นันทกิจ. การปลูกพืชในวัสดุปลูก(Substrate Culture). [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.kmitl.ac.th~kasoil/hyframe/substrate.html. 2555.
16. สุนิสา แซ่ตัน. 2555. *ผลของการเพาะเมล็ดตะบูนดำในวัสดุที่ต่างกัน*. ปัญหาพิเศษ ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี.