Journal of Science and Technology Vol. 6, No. 1, 2017 วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปีที่ 6 ฉบับที่ 1 2560

การขยายพันธุ์มันพื้นบ้านสกุล Dioscorea เพื่อเป็นแหล่งอาหารทดแทน

Propagation of *Dioscorea* spp. for alternative food resources

รงรอง หอมหวล,[1*] มณฑา วงศ์มณีโรจน์,[1] สุลักษณ์ แจ่มจำรัส,[1] สมนึก พรมแดง,[1] วุฒิชัย ทองดอนแอ[1]
ประเทือง ดอนสมไพร,[1] รัตนา เอการัมย์[1] และสนธิชัย จันทร์เปรม[2]
Rongrong Homhual,[1*] Monthar Wongmaneeroj,[1] Surak Jamjumrus, [1] Somnuk Promdany,[1]
Wutichai Tongdonae,[1] Pratrung Donsomprai,[1] Rattana Agarum[1] and Sontichai Chanprame[2]

ABSTRACT

Multiplication of yam cv. 'Man-luat' by stem cutting was carried out. It was found that 2,000 mg/l IBA gave the highest shoot survival of 67.50% with green leaves and new shoots at upper nodes and roots at lower nodes. For micro-propagation by tissue culture, surface disinfection of nodal tissue of yam cv. 'Man-luat' and 'Man-chao-ma-phrao' showed 66.67% and 91.67% success, respectively. Browning substance accumulation was found at the cut end of both yam explants.The use of 0.5 g/l citric acid to inhibit the release of browning substance had adverse effect on shoot growth especially in 'Man-chao-ma-phrao'. Plant micropropagation was conducted using MS medium supplemented with 1.0 mg/l BA. The average shoot number of 3.50 in 'Man-chao-ma-phrao' and 1.60 in 'Man-luat' were observed. Root induction in MS medium supplemented with 0.2 mg/l NAA yielded more branches, root hair, greater plant height and bigger leaves than in hormone-free MS or with 0.1 mg/l NAA.

Key words: stem cutting, plant tissue culture, plant growth regulator, yam

บทคัดย่อ

ศึกษาการขยายพันธุ์มันเลือดโดยวิธีปักชำ พบว่าการจุ่มเถามันเลือดในสารเร่งราก IBA ความเข้มข้น 2,000 มก./ล. ให้เปอร์เซ็นต์รอดชีวิตมากที่สุด 67.50% โดยลำต้น และ ใบเป็นสีเขียว แตกยอดใหม่บริเวณข้อบน และมีรากงอกบริเวณข้อล่าง ส่วนการขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้น พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อข้อของมันเลือด และมันจาวมะพร้าว มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ 66.67% และ 91.67% ตามลำดับ มักพบสารสีน้ำตาลเกิดขึ้นบริเวณรอยตัดของชิ้นส่วนของมันทั้ง 2 ชนิด จึงเติมสาร citric acid ที่ความเข้มข้น 0.5 ก./ล. เพื่อยับยั้งสารสีน้ำตาลบริเวณรอย

[1*] ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

Central Laboratory and Greenhouse Complex, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand.

[2] ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand.

[*] Corresponding author: Tel 034-351399, Fax 034-351392, E-mail address: rdirov@ku.ac.th

ตัดของชิ้นส่วนแต่กลับมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของยอดร่วมด้วยโดยเฉพาะในมันจาวมะพร้าว การเพิ่มปริมาณต้นโดยการเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. พบว่า มันจาวมะพร้าวแตกยอดเพิ่มเฉลี่ย 3.50 ต้น มันเลือดแตกยอดเฉลี่ย 1.60 ต้น ตามลำดับ ชักนำให้ต้นมันทั้ง 2 ชนิดออกรากได้ในอาหาร MS ที่เติม NAA 0.2 มก./ล. ลักษณะรากแตกแขนงมากกว่า มีรากขนอ่อน ลำต้นสูง และใบมีขนาดใหญ่กว่าต้นที่ชักนำในอาหารสูตร MS ที่ปราศจาก NAA และที่เติม NAA 0.1 มก./ล.

คำสำคัญ: การปักชำต้น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สารควบคุมการเจริญเติบโต มันพื้นบ้าน

คำนำ

มันป่าหรือมันพื้นบ้าน (yam) เป็นพืชอาหารที่น่าสนใจชนิดหนึ่ง ส่วนใหญ่อยู่ในวงศ์ Dioscoreaceae สกุล *Dioscorea* spp. เช่น มันนก มันพร้าว มันจาวมะพร้าว มันเสา มันขมิ้น มันเลือด มันมือเสือ มันแกว มันเทียน มันขี้หนู และกลอย เป็นต้น ซึ่งมันเลือด และมันจาวมะพร้าว จัดอยู่ในพืชสกุล *Dioscorea* (*D. alata*) (Santisuk *et al.*, 2009) มันพื้นบ้านมีประโยชน์ในการใช้เป็นอาหารที่สำคัญทดแทนข้าว นอกจากนี้ยังมีประโยชน์ทางการแพทย์ ช่วยล้างสารพิษในร่างกาย และมีสารอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการครบถ้วน ทั้งแป้ง น้ำตาล โปรตีน และธาตุอาหารที่มีประโยชน์ เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม โพแทสเซียม กรดโฟลิก และ สารแอนโทไซยานิน (เดลินิวส์, 2552) และมันพื้นบ้านบางชนิดเป็นแหล่งของวิตามินซีที่สำคัญ (Chen *et al.*, 2003) บางชนิดเป็นแหล่งของฮอร์โมน diosgenin และ corticosteroids (Satour *et al.*, 2007) มันพื้นบ้านเป็นพืชปลูกง่าย มีหัวไว้ให้บริโภคและขยายพันธุ์ แต่มักจะขุดหัวมันมาบริโภคโดยไม่ได้ปลูกทดแทนหัวที่ขุดมาจากธรรมชาติ ทำให้หัวมันพื้นบ้านเริ่มหายาก และบางพันธุ์สูญพันธุ์ไปแล้ว การใช้ประโยชน์อย่างเดียวโดยไม่มีการขยายพันธุ์จะทำให้มันพื้นเมืองหรือมันป่าบางพันธุ์สูญพันธุ์ไป

มีการขยายพันธุ์มันป่าด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดย Poornima and Ravishankar (2007) รายงานว่า สามารถเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันป่า 2 ชนิด คือ *Dioscorea oppositifolia* และ *Dioscorea pentaphyll* โดยนำข้อมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติม BA 8.8 µM และ ถ่าน 0.3% พบว่า สามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากและสามารถออกรากได้ในสูตรเดียวกัน

Huabing และคณะ (2011) รายงานว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้มันป่า *Dioscorea fordii* Prain et Burk เกิดยอด (axillary shoot) และสร้างหัวเล็กจำนวนมากคือเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA 1.0 มก./ล. , NAA 0.1 มก./ล. น้ำตาล 30 ก./ล. และ ถ่าน 1.5 ก./ล.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเทคนิคการขยายพันธุ์มันพื้นบ้านบางชนิดที่มีศักยภาพในการเป็นอาหาร โดยวิธีปักชำและวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เพื่อนำเทคนิคดังกล่าวไปใช้ประโยชน์ในการผลิตมันพื้นบ้านที่เริ่มหายากในเชิงปริมาณ เพื่อเป็นแหล่งผลิตอาหารทดแทนต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การขยายพันธุ์มันพื้นบ้านโดยวิธีปักชำ

นำเถาของมันเลือดที่มีอายุประมาณ 1 ปี จากศูนย์เรียนรู้เศรษฐกิจพอเพียงปลักไม้ลาย อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม มาทดลองขยายพันธุ์แบบวิธีปักชำ โดยตัดเถาเป็นท่อน ยาวประมาณ 10 ซม. แต่ละท่อนมี 2 ตา จำนวน 120 ท่อน แบ่งเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 40 ท่อน กลุ่มที่1 จุ่มท่อนพันธุ์ในน้ำไม่มีสารเร่งราก (control) กลุ่มที่ 2 และ 3 จุ่มท่อนพันธุ์ในสารเร่งราก IBA ความเข้มข้น 1,000 และ 2,000 มก./ล. ตามลำดับ ทุกกลุ่มแช่เป็นเวลา 5 นาที แล้ววางไว้ประมาณ 10 นาที จนสารเร่งรากหรือน้ำแห้ง จากนั้น

นำท่อนพันธุ์มาปักชำในถุงที่มีวัสดุเพาะชำคือ ดินร่วน:ขี้เถ้าแกลบ:ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:1 รดน้ำให้ชุ่ม วางไว้ในกระโจมพลาสติก (Figure 1) ในโรงเรือนที่มีระบบน้ำสเปรย์ด้านบน เพื่อศึกษาอัตราการรอดชีวิตของท่อนพันธุ์และการออกรากหลังจากเพาะชำในเรือนเพาะชำ เป็นเวลา 1 เดือน ที่อุณหภูมิประมาณ 36-37 ˚C วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) ทำการทดลอง 4 ซ้ำๆ ละ 10 ท่อน เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

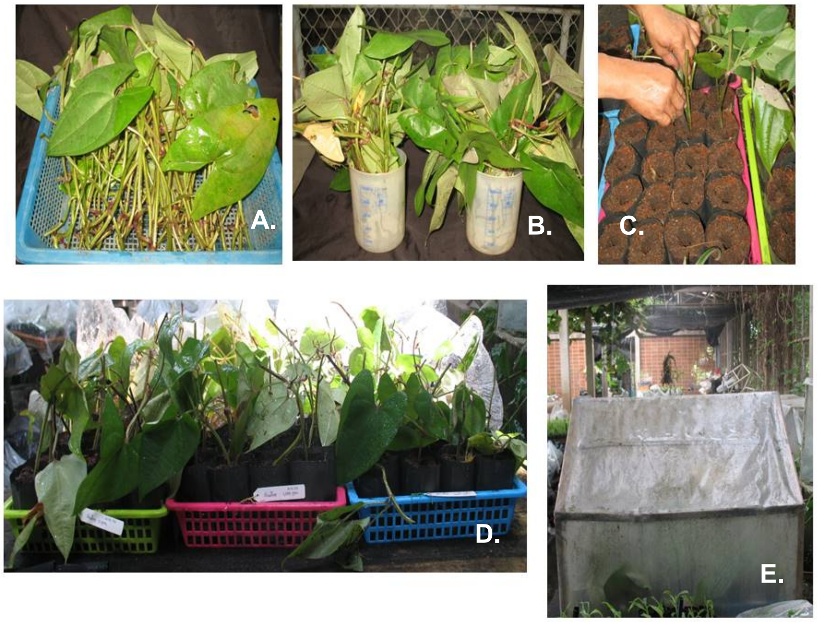

Figure 1 (A.) stem of *Dioscorea* spp. (cv. 'Man-laut') (B.) stem of 'Man-Luat' dipped in IBA solution for 5 min (C.-D.) planted in planting material (soil:rice hull ashes:coconut husk 1:1:1) (E.) covered with plastic sheet for 1 month

การขยายพันธุ์มันพื้นบ้านโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว

ศึกษาการขยายพันธุ์มันพื้นบ้าน 2 ชนิด คือ มันเลือด และมันจาวมะพร้าว โดยนำข้อของมันพื้นบ้านทั้ง 2 ชนิด (Figure 2) มาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวโดยใช้สารละลายคลอร็อกซ์ 10% และ 5% ที่เติมยาจับใบ (tween 20) 1-2 หยด แช่นานประมาณ 10 นาที และ 5 นาที ตามลำดับ จากนั้นล้างสารละลายคลอร็อกซ์ออกด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ตัดเฉพาะ ข้อหรือตายอด มาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS (1962) ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 1 เดือน เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของข้อ หรือตายอด เปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 1 เดือน เก็บเนื้อเยื่อพืชไว้ที่ห้องควบคุมอุณหภูมิ 28 ˚C ความเข้มแสงประมาณ 37 µmol $m^{-2}s^{-1}$ ช่วงแสง 10 ชม.ต่อวัน

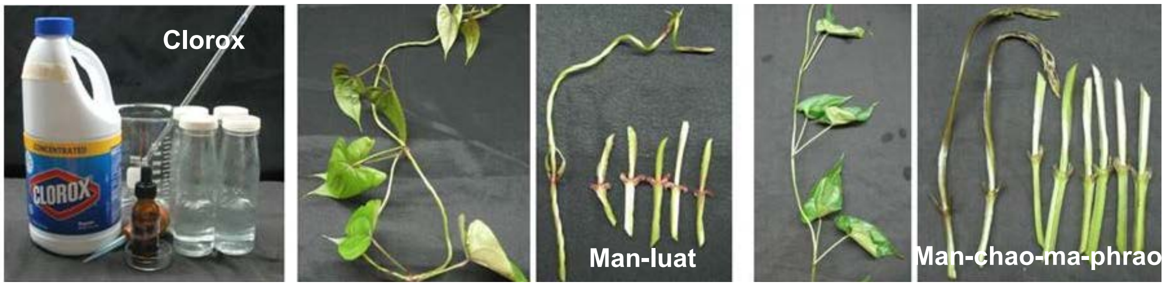

Figure 2 Surface disinfection of *Dioscorea* spp , cv. ‘Man-luat’ and ‘Man-chao-ma-phrao’

การลดสารสีน้ำตาลจากชิ้นส่วนของมันพื้นบ้าน

ตัดชิ้นส่วนข้อของมันเลือด และมันจาวมะพร้าว ขนาดความยาวประมาณ 0.5 ซม. ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS จากการทดลองที่ 1 มาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติมสาร citric acid ความเข้มข้น 0,100 และ 500 มก./ล. เป็นเวลา 1 เดือน เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นของสาร citric acid ที่เหมาะสมในการลดปริมาณสารสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นจากชิ้นส่วน จากนั้นเก็บเนื้อเยื่อพืชไว้ที่ห้องควบคุมอุณหภูมิ 28 $^{\circ}$C ความเข้มแสงประมาณ 37 µmol m^{-2}s^{-1} ช่วงแสง 10 ชม.ต่อวัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 8 ชิ้นต่อสูตรอาหาร เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้นมันพื้นบ้าน

ตัดชิ้นส่วนข้อของมันเลือด และมันจาวมะพร้าว ขนาดความยาวประมาณ 0.5 ซม. จากการทดลองที่ 1 มาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้นระดับต่างๆ คือ 0, 0.1, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มก./ล. เป็นเวลา 2 เดือน เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดต้นและเพิ่มปริมาณจำนวนมาก โดยเก็บไว้ที่ห้องควบคุมอุณหภูมิ 28 $^{\circ}$C ความเข้มแสงประมาณ 37 µmol m^{-2}s^{-1} ช่วงแสง 10 ชม.ต่อวัน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 8 ชิ้นต่อสูตรอาหาร เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT

ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้ออกรากของต้นมันพื้นบ้าน

ตัดข้อของมันเลือด และมันจาวมะพร้าว ขนาดความยาวประมาณ 0.5 ซม. จากสูตรอาหาร MS การทดลองที่ 1 มาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0, 0.1 และ 0.2 มก./ล. เป็นเวลา 2 เดือน เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้ต้นออกราก โดยเก็บไว้ที่ห้องควบคุมอุณหภูมิ 28 $^{\circ}$C ความเข้มแสงประมาณ 37 µmol m^{-2}s^{-1} ช่วงแสง 10 ชม.ต่อวัน ทำการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 8 ชิ้นต่อสูตรอาหาร

ผลการทดลองและวิจารณ์

การขยายพันธุ์มันพื้นบ้านโดยวิธีปักชำ

จากการทดลองปักชำเถามันเลือดโดยจุ่มท่อนพันธุ์ในสารเร่งราก IBA ความเข้มข้น 0 1,000 และ 2,000 มก./ล. เป็นเวลา 5 นาที แล้วชำในถุงที่มีวัสดุเพาะชำคือ ดินร่วน:ขี้เถ้าแกลบ:ขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1:1 รดน้ำให้ชุ่ม วางไว้ในกระโจมพลาสติกเป็นเวลา 1 เดือน

กลุ่มชุดควบคุม (control) ของมันเลือดที่ไม่จุ่มสารเร่งราก IBA พบว่าท่อนพันธุ์ส่วนใหญ่

เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และดำ ตายในสัปดาห์ที่ 2 หลังจากการปักชำ ส่วนท่อนพันธุ์ที่รอดชีวิตประมาณ 30% มีเถา (ลำต้น) ใบเป็นสีเขียว แตกยอดใหม่บริเวณข้อบน และรากเริ่มงอกบริเวณข้อล่างที่ชำในวัสดุปลูก รากมีลักษณะเป็นเส้นตรงยาว สีขาว ไม่แตกแขนง เกิดหัวขนาดเล็ก (mini tuber) เฉลี่ย 1.80 หัวต่อเถา บริเวณข้อล่างที่อยู่ในวัสดุปลูกหลังจากปักชำเป็นเวลา 1 เดือน (Table 1 และ Figure 3)

กลุ่มที่จุ่มในสารเร่งราก IBA ความเข้มข้น 1,000 มก./ล. พบว่าท่อนพันธุ์มีการตายเช่นเดียวกับชุดควบคุม แต่น้อยกว่า โดยมีท่อนพันธุ์ที่รอดชีวิตคิดเป็น 55% มีลำต้น ใบเป็นสีเขียว แตกยอดใหม่บริเวณข้อบน และรากเริ่มงอกบริเวณข้อล่างเช่นเดียวกัน รากยาวสีขาว แตกแขนง มีรากขนอ่อน เกิดหัวขนาดเล็กเฉลี่ย 2.10 หัวต่อเถา หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน (Table 1 และ Figure 3)

กลุ่มที่จุ่มในสารเร่งราก IBA ความเข้มข้น 2,000 มก./ล. พบว่าท่อนพันธุ์มีการตายน้อยที่สุด มีท่อนพันธุ์ที่รอดชีวิต 67.50% ลำต้น ใบเป็นสีเขียว แตกยอดใหม่บริเวณข้อบน และรากเริ่มงอกบริเวณข้อล่างเช่นเดียวกัน ลักษณะรากยาวสีขาว แตกแขนง มีรากขนอ่อนสั้นๆ กลุ่มนี้ให้ค่าเฉลี่ยจำนวนรากและความยาวรากสูงสุดอยู่ที่ 3.03 ราก และ 6.33 ซม. ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกลุ่มชุดควบคุม และเมื่อสังเกตการเกิดหัวเล็ก (mini tuber) พบว่า กลุ่มนี้เกิดจำนวนหัวขนาดเล็กน้อยที่สุด เฉลี่ย 1.63 หัวต่อเถา หลังจากปักชำเป็นเวลา 1 เดือน (Table 1 และ Figure 3)

IBA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่นิยมใช้ในการเร่งรากในการปักชำของมันพื้นบ้านทั้งในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและปักชำยอด โดย Poornima and Ravishankar (2007) รายงานว่า การใช้ IBA ความเข้มข้น 49 µM (ประมาณ 10 มก./ล.) แช่ยอด (microshoot) ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อก็เพียงพอที่จะชักนำให้ยอดของ *D.oppositifolia* และ *D. pentaphylla* ออกรากได้

จากการปักชำเถามันเลือดจะเกิดหัวขนาดเล็ก (mini tuber) ในทุกการทดลอง (Table 1 และ Figure 3) ซึ่งหัวเล็กที่เกิดขึ้นจะทำหน้าที่สะสมอาหารเพื่อใช้ในการเจริญเติบโต และหัวจะขยายขนาดเมื่ออายุมากขึ้น โดยทั่วไปหัวมันพื้นบ้านสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตหลังจากปลูกแล้วประมาณ 2-3 ปี

Table 1 Survival percentage of stem cuttings producing roots of yam cv. ‘Man-laut’ treated with 0, 1,000 and 2,000 mg/l IBA after 1 month of cutting

IBA (mg/])	No. of stem cutting	No. of survival stem	Survival percentage	No. of roots/plant	Average root length (cm.)	Average No. of mini tuber
0	40	12	30.00	2.27±0.93	5.03±3.74	1.80±0.99
1,000	40	22	55.00	2.25±0.99	6.16±4.95	2.10±0.97
2,000	40	27	67.50	3.03±1.61	6.33±4.23	1.63±0.62
F-test	-	-		ns	ns	ns

ns : not significantly different (p<0.05) according to DMRT

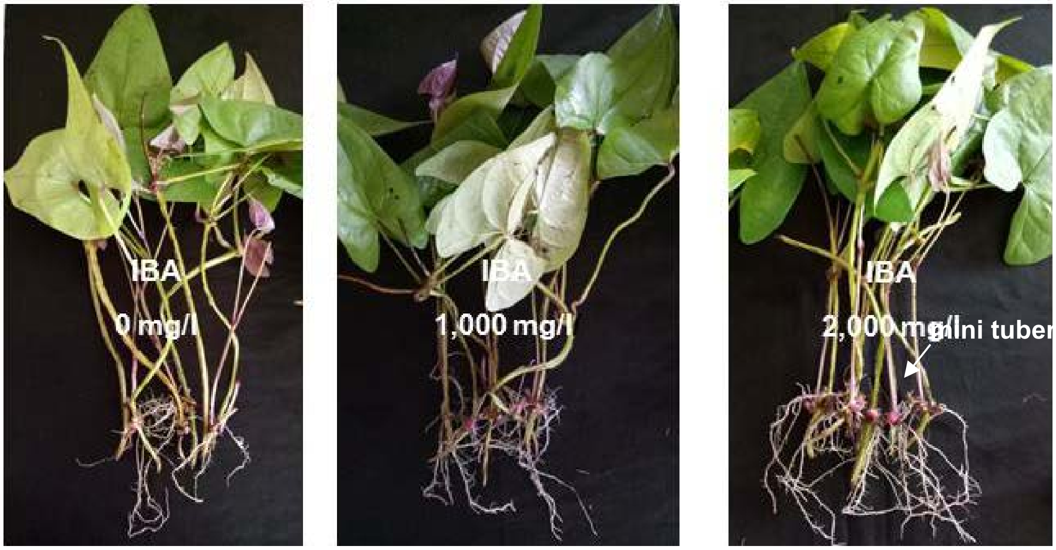

Figure 3 Rooting of yam cv. ‘Man-laut’ stem cuttings treated with 0, 1,000 and 2,000 mg/l IBA at 1 month

การขยายพันธุ์มันพื้นบ้านโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว

ศึกษาการเจริญของยอดเมื่อฟอกฆ่าเชื้อข้อของมันเลือด และมันจาวมะพร้าวแล้ว พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อ 66.67 และ 91.67% ตามลำดับ พบสารสีน้ำตาลเกิดขึ้นบริเวณรอยตัดของชิ้นส่วนของมันพื้นบ้านทั้ง 2 ชนิด หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 1 สัปดาห์ เมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปจนครบ 1 เดือน สารสีน้ำตาลกระจายตัวในอาหารเพิ่มขึ้น และพบว่ามันเลือดเกิดสารสีน้ำตาลที่บริเวณรอยตัดและในอาหารมากกว่ามันจาวมะพร้าว การเกิดสารสีน้ำตาลในอาหารน่าจะมาจากชิ้นส่วนของมันพื้นบ้านทั้ง 2 ชนิดเกิดบาดแผลบริเวณรอยตัดและปลดปล่อยสารสีน้ำตาลออกมา ซึ่งจะพบมากในพืชสกุล *Dioscorea* อย่างไรก็ตามบริเวณตาข้างของมันเลือด และมันจาวมะพร้าว สามารถเกิดยอดใหม่มีการเจริญเติบโตยืดยาวประมาณ 2-3 ซม. และแตกใบอ่อน 2-3 คู่ หลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต ทั้งที่อาหารเพาะเลี้ยงเป็นสีน้ำตาล (Figure 4)

จากรายงานของ Bhat and Chandel (1991) กล่าวว่า *D. alata* ซึ่งเป็นพืชในสกุล *Dioscorea* มักพบการเกิดสีน้ำตาลบนอาหารและบริเวณรอยตัดของชิ้นส่วน หากเพาะเลี้ยงพืชในขวดที่มีพื้นที่กว้าง การเกิดสารสีน้ำตาลของพืชก็จะไม่มีผลกระทบต่อการเจริญของต้นและราก ในทางตรงกันข้ามหากเพาะเลี้ยงในขวดที่มีพื้นที่น้อยจะมีผลกระทบต่อชิ้นส่วนทำให้ตายได้ เช่นเดียวกับรายงานของ Shukla and Shukla (2014) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันพื้นบ้านอินเดีย (*D. hispida*) ในอาหารสูตร MS หลังจากเพาะเลี้ยงประมาณ 15 วัน เกิดสีน้ำตาลในอาหาร ซึ่งอาจจะเป็นการเกิด phenolic oxidation และเกิดสะสมสารสีน้ำตาลที่พืชขับออกมา

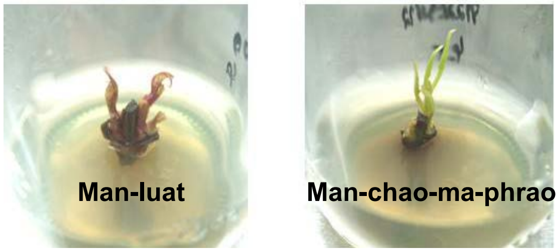

Figure 4 Plantlets of yam cv. ‘Man-luat’ and ‘Man-chao-ma-phrao’ cultured on MS medium for 1 month without plant growth regulator

การลดสารสีน้ำตาลจากชิ้นส่วนของมันพื้นบ้าน

หลังจากการทดลองที่ 1 พบว่าเกิดสารสีน้ำตาลกระจายในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงมันพื้นบ้านทั้ง 2 ชนิด จึงศึกษาการลดการเกิดสารสีน้ำตาลของชิ้นเนื้อเยื่อ โดยตัดชิ้นส่วนข้อของมันเลือด และมันจาวมะพร้าว ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS มาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติมสาร citric acid ความเข้มข้น 0 100 และ 500 มก./ล. เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า เกิดสารสีน้ำตาลในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม citric acid มากที่สุด (ระดับการเกิดสารสีน้ำตาลเท่ากับ 5) แต่เมื่อสังเกตการเจริญเติบโตของยอดจากข้อของมันพื้นบ้านทั้ง 2 ชนิดที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่เติม citric acid พบว่ามันเลือดสามารถเจริญเติบโตได้มีความสูงเฉลี่ย 2.14 ซม. และมันจาวมะพร้าวสูงเฉลี่ย 2.71 ซม. (Table 2 และ Figure 5) ซึ่งสูงกว่าที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มี citric acid

ในกรณีที่ใส่สาร citric acid พบว่า ที่ความเข้มข้น 500 มก./ล. มีผลยับยั้งการเกิดสารสีน้ำตาลบริเวณรอยตัดของชิ้นส่วนและในอาหารได้มากกว่า citric acid ความเข้มข้น 100 มก./ล. และไม่ใส่สาร citric acid แต่การใส่สาร citric acid 500 มก./ล. มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตในลักษณะความสูงของยอด โดยเฉพาะในมันจาวมะพร้าว แต่ทั้งนี้การใส่สาร citric acid ไม่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอด (Table 2 และ Figure 5)

การทดลองนี้พบว่าการใส่สาร citric acid ที่ความเข้มข้น 500 มก./ล. ช่วยดูดซับสารสีน้ำตาลที่พืชปล่อยออกมาในอาหารเช่นเดียวกับการทดลองของ Shukla and Shukla (2014) ที่ใช้สาร polyvinylpyrrolidone (PVP) ความเข้มข้น 1000 มก./ล. ดูดซับสารสีน้ำตาลในอาหารของมันพื้นบ้านอินเดีย (*D. hispida*)

การลดการเกิดและสะสมสารสีน้ำตาลอาจทำได้โดยการเติมสาร polyvinylpyrrolidone (PVP) ลงในอาหารความเข้มข้น 100-1000 มก./ล. (Yan *et al.*, 2002; Shukla *et al.*, 2009; Shukla and Shukla, 2014) และพบว่าสาร PVP ส่งเสริมการเกิดยอดใหม่อีกด้วย (Shukla *et al.*, 2009) หรือใส่ผงถ่าน (activated charcoal) 0.3% W/V (Poornima and Ravishankar, 2007) ดังนั้นจึงควรศึกษาการใช้สาร PVP ในการทดลองครั้งต่อไป

Table 2 Shoot initiation, height and level of brownness of yam cv. 'Man-luat' and 'Man-chao-ma-phrao' cultured on MS supplemented with 0, 100 and 500 mg/l citric acid for 1 month

Citric acid (mg/l)	**No. of explant**	**Man-luat**			**Man-chao-ma-phrao**		
		No. explant induced shoot initiation(%)	**Height (cm)**	**Level of brownness**[1]	**No. explant induced shoot initiation(%)**	**Height (cm)**	**Level of brownness**[1]
0	24	66.67	2.14±0.79	5	83.33	2.71±1.10^{a}	5
100	24	66.67	2.14±0.45	3	83.33	1.81±0.46^{ab}	3
500	24	70.83	1.50±0.67	2	87.50	0.63±0.12^{b}	1
F-test	-	-	ns		-	-	

ns : not significantly different ($p<0.05$) according to DMRT . Values with the same letter in the same column are not significantly different ($p<0.05$) according to DMRT

[1] 1 = minimum, 5 = maximum

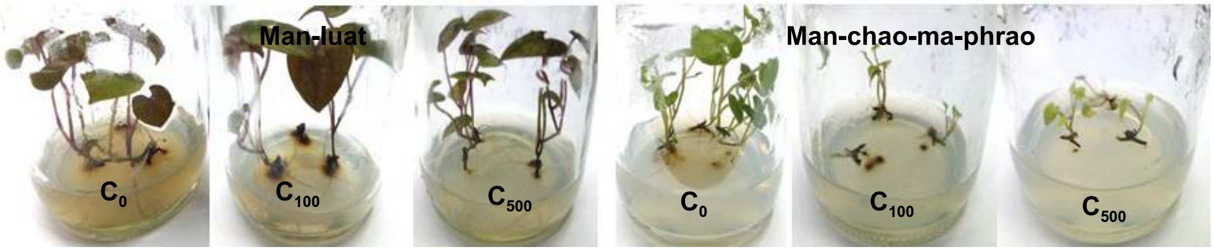

Figure 5 Plantlets of yam cv. 'Man-luat' and 'Man-chao-ma-phrao' cultured on MS supplemented with 0, 100 and 500 mg/l citric acid for 1 month

ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้น

หลังจากตัดชิ้นส่วนข้อของมันเลือด และมันจาวมะพร้าว ขนาดความยาวประมาณ 0.5 ซม. จากการทดลองที่ 1 มาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้นระดับต่างๆ คือ 0, 0.1, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มก./ล. เป็นเวลา 2 เดือน พบว่า มันพื้นบ้านทั้ง 2 ชนิดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 0 และ 0.1 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดยอดแต่ไม่แตกกอ และบางข้อในอาหารที่เติม BA 0.1 มก./ล. ไม่แตกยอด ส่วนอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 0.5 และ 1.0 มก./ล. พบว่า มันเลือดแตกยอดเฉลี่ย 1.29 และ 1.60 ต้น ตามลำดับ มันจาวมะพร้าวแตกยอดเฉลี่ย 2.56 และ 3.50 ต้น ตามลำดับ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้น BA สูงขึ้นเป็น 1.5-2.0 มก./ล. ในมันเลือดจะเกิดแคลลัสล้อมรอบบริเวณข้อโดยไม่พบการเกิดยอด ในขณะที่มันจาวมะพร้าวเกิดแคลลัสเช่นเดียวกันแต่สามารถเกิดยอดได้ แต่ยอดสั้นไม่ยืดยาวออกมา

เมื่อเปรียบเทียบค่าที่ได้ทางสถิติ กรณีของจำนวนยอดที่เกิดขึ้น (Table 3) พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ สูตรอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. สามารถชักนำให้มันเลือดและมันจาวมะพร้าวเกิดจำนวนยอดมากที่สุด คือ 1.60 ต้น และ 3.50 ต้น ตามลำดับ เมื่อพิจารณาความสูงของยอดมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน ในสูตรอาหาร MS ที่ปราศจาก BA พบว่า ยอดของมันพื้นบ้านทั้ง 2 ชนิดคือมันเลือดและมันจาวมะพร้าว มีการเจริญเติบโตสูงที่สุด (1.58 ซม. และ 1.94 ซม. ตามลำดับ) ส่วนยอดของมันพื้นบ้านทั้ง 2 ชนิด ที่เจริญในอาหาร BA ความเข้มข้นต่ำ (0.1-0.5 มก./ล.) ยอดจะสูงกว่ายอดที่เลี้ยงในอาหาร BA ที่ความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ยอดที่เลี้ยงในอาหารที่เติม BA 1.5-2.0 มก./ล. มีลักษณะยอดสั้นและเกิดแคลลัสบริเวณข้อ จากการสังเกตพบสารสีน้ำตาลสะสมในอาหารทุกสูตรและพบในอาหารที่เลี้ยงมันเลือดมากกว่ามันจาวมะพร้าว ตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยงประมาณ 2 เดือน (Figure 6)

จากการเพาะเลี้ยงมันเลือดและมันจาวมะพร้าว พบว่า ยอดของมันพื้นบ้านทั้ง 2 ชนิด สามารถเจริญเติบโตได้ดีในอาหารสูตร MS เช่นเดียวกับการทดลองในมันพื้นบ้าน *Dioscorea* spp. ชนิดอื่นๆ เช่น *D. zingiberensis* (Schenk and Hildebrandt, 1972; Bhat and Chandel, 1991) *D. oppositifolia*, *D. rotundata* และ *D. alata* (Adeniyi *et al.*, 2008) และการใช้สารเร่งการเจริญเติบโต BA 1.0 มก./ล. สามารถกระตุ้นการเกิดยอดของมันพื้นบ้านทั้ง 2 ชนิดได้มากที่สุด ทำนองเดียวกับการทดลองของ Shukla and Shukla (2014) กล่าวว่าการใช้ BA 1.0 มก./ล. ร่วมกับ PVP 1,000 มก./ล. ในอาหารสูตร WPM เพาะเลี้ยงมันพื้นบ้านของอินเดียสกุล *D. hispida* กระตุ้นการเกิดยอดและลดการเกิดสารสีน้ำตาลมากที่สุด แต่การทดลองนี้ใช้สูตรอาหาร MS แทนสูตรอาหาร WPM และไม่ได้ใส่สาร PVP เพื่อลดการเกิดสารสีน้ำตาล

Table 3 Growth of yam cv. 'Man-luat' and 'Man-chao-ma-phrao' cultured on MS supplemented with 0, 0.1, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg/l BA for 2 months

BA (mg/l)	**No. of explant**	**Man-luat**			**Man-chao-ma-phrao**		
		No. of shoots/nodal explant*	**Shoot Height (cm)**	**Shoot formation (%)**	**No. of shoots/nodal explant ***	**Shoot Height (cm)**	**Shoot formation (%)**
0	24	1^{c}	1.58^{a}	77.78	1^{c}	1.94^{a}	83.33
0.1	24	0.75^{c}	0.92^{b}	77.78	1.50^{c}	0.90^{b}	100
0.5	24	1.29^{b}	0.83^{bc}	83.33	2.56^{b}	0.87^{b}	100
1.0	24	1.60^{a}	0.58^{c}	88.89	3.50^{a}	0.50^{bc}	88.89
1.5	24	0^{d}+C	0^{d}	0	0.67^{d}+C	0.3^{c}	33.33
2.0	24	0^{d}+C	0^{d}	0	0.50^{d}+C	0.2^{c}	16.67
F-test	-	-	-	-	-	-	-

Values with the same letter in the same column are not significantly different ($p<0.05$) according to DMRT

* C = callus

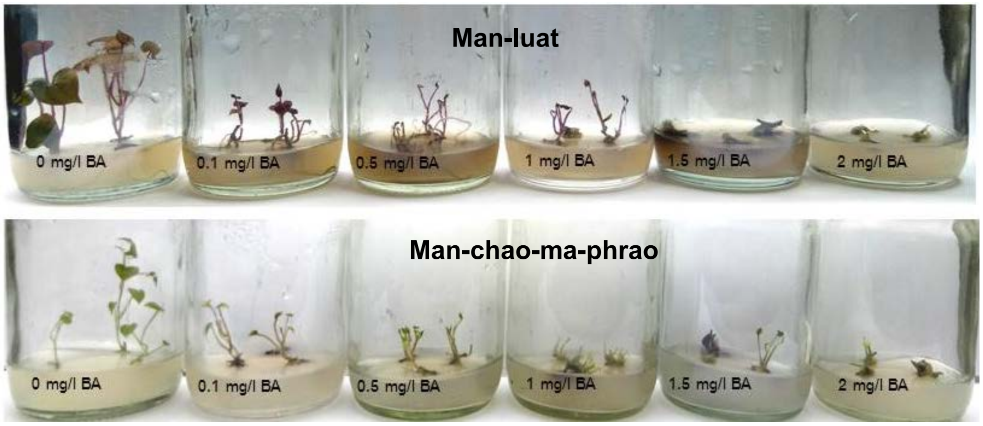

Figure 6 Growth of yam cv. 'Man-luat' and 'Man-chao-ma-phrao' cultured on MS supplemented with 0, 0.1, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg/l BA for 2 months

ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้ออกรากของต้นมันพื้นบ้าน

หลังจากตัดข้อของมันเลือด และมันจาวมะพร้าว ยาว 0.5 ซม.จากสูตรอาหาร MS มาเพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MS ที่เติม NAA 0, 0.1 และ 0.2 มก./ล. เป็นเวลา 2 เดือน พบว่า ข้อของมันพื้นบ้านทั้ง 2 ชนิดที่เพาะเลี้ยงในอาหารแตกยอดใหม่ในอาหารทุกสูตร เมื่อเปรียบเทียบการชักนำให้ออกรากพบว่า อาหารทุกสูตรสามารถชักนำให้ออกรากได้ 100% ยกเว้นในมันจาวมะพร้าวที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ปราศจาก NAA พบเปอร์เซ็นต์ออกราก 80% รากมีลักษณะเป็นเส้นยาว สีขาว ไม่แตกแขนง สำหรับรากของมันพื้นบ้านทั้ง 2 ชนิด ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.1 และ 0.2 มก./ล. เกิดรากแตกแขนงมากกว่า และมีรากขนอ่อน เมื่อพิจารณายอดที่เจริญจากข้อของมันพื้นบ้านทั้ง 2 ชนิด พบว่ายอดของมันพื้นบ้านทั้ง 2 ชนิดที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.2 มก./ล. มีการเจริญเติบโตของต้นสูง และใบมีขนาดใหญ่กว่าต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ปราศจาก NAA และที่เติม NAA 0.1 มก./ล. (Table 4 and Figure 7) จากการทดลองนี้พบว่าการใช้ NAA ความเข้มข้น 0.2 มก./ล. มีผลสนับสนุนการเกิดราก การแตกแขนงของราก และส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นและใบในมันพื้นบ้านทั้ง 2 ชนิด มากกว่าอาหารสูตร MS ที่ปราศจาก NAA และที่เติม NAA 0.1 มก./ล.

มีผลงานวิจัยทำนองเดียวกันที่ใช้สาร NAA หรือ IBA ในการกระตุ้นการออกรากในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสมุนไพร พรมมิ (*Bacopa monneiri* (L.) Wettst) พบว่าสามารถชักนำให้ต้นพรมมิเกิดรากได้ 100% ในอาหารสูตร MS ที่เติมสารเร่งราก IBA ความเข้มข้น 0.15 มก./ล. (Sharma *et al.*, 2010) และ Behera *et al.* (2008) ศึกษาการชักนำให้ต้นมันพื้นบ้าน (*D. hispiba*) ออกรากในอาหารสูตร ½MS ที่เติม NAA หรือ IBA พบว่า ต้น *D. hispiba* สามารถออกรากได้ดีในอาหารสูตร ½MS ที่เติม NAA 2 มก./ล. และถ่าน 2 ก./ล. นอกจากนี้ ยังพบว่า NAA มีประสิทธิภาพในการชักนำให้ต้น *D. hispiba* ออกรากได้ดีกว่า IBA แต่สำหรับการทดลองนี้สามารถชักนำให้มันพื้นบ้านทั้ง 2 ชนิดคือ มันเลือด และมันจาวมะพร้าว ออกรากได้ดีในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.2 มก./ล. และไม่ใส่ถ่าน

Table 4 Root induction percentage of yam cv. 'Man-luat' and 'Man-chao-ma-phrao' cultured on MS supplemented with 0, 0.1 and 0.2 mg/l NAA for 2 months

NAA (mg/l)	No. of explant	Man-luat		Man-chao-ma-phrao	
		Rooting (%)	Character	Rooting (%)	Character
0	24	100	White long roots	80	White long roots
0.1	24	100	White- fibrous roots	100	White- fibrous roots
0.2	24	100	White- purple roots	100	White- purple roots

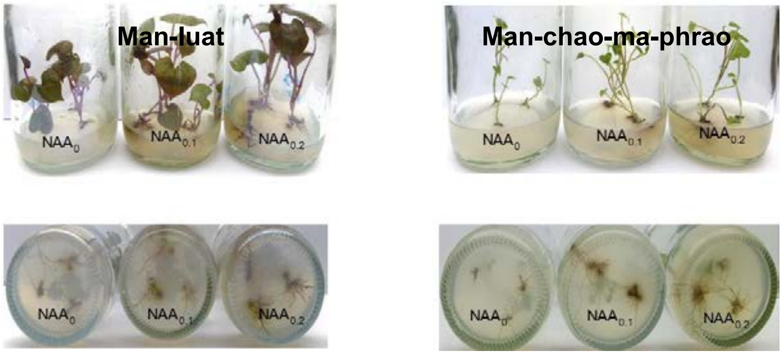

Figure 7 Root induction of yam cv. 'Man-luat' and 'Man-chao-ma-phrao' cultured on MS supplemented with 0, 0.1 and 0.2 mg/l NAA for 2 months

การศึกษาการขยายพันธุ์มันเลือดโดยวิธีปักชำ พบว่า มันเลือดที่จุ่มในสารเร่งราก IBA ความเข้มข้น 2,000 มก./ล. มีท่อนพันธุ์ที่รอดชีวิตมากที่สุด ลำต้น และใบเป็นสีเขียว แตกยอดใหม่บริเวณข้อบน และมีรากงอกบริเวณข้อล่าง เมื่อขยายพันธุ์มันเลือดและมันจาวมะพร้าวโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่า มีเปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อ 66.67 และ 91.67% ตามลำดับ และพบสารสีน้ำตาลเกิดขึ้นบริเวณรอยตัดของชิ้นส่วนของมันทั้ง 2 ชนิด การใส่สาร citric acid ความเข้มข้นที่ 500 มก./ล. มีผลยับยั้งสารสีน้ำตาลบริเวณรอยตัดของชิ้นส่วน แต่ก็มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของยอดด้วยเช่นกัน การเพิ่มปริมาณต้นมันเลือดและมันจาวมะพร้าวจำนวนมากโดยการเพาะเลี้ยงข้อในอาหาร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. และชักนำให้ต้นออกรากในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.2 มก./ล. พบรากแตกแขนง และมีรากขนอ่อน ลำต้นสูง และใบกางมีขนาดใหญ่กว่าเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่ปราศจาก NAA และที่เติม NAA 0.1 มก./ล. ระยะเวลาที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณต้นจนถึงระยะออกรากประมาณ 4 เดือน

คำขอบคุณ

การวิจัยนี้ได้รับงบประมาณสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

เดลินิวส์ การปลูกมันพื้นบ้าน มันป่าเชิงพาณิชย์. วันที่ 19 มกราคม 2552. (http://www.Dailynews.co.th/web/html/popup_news/Default.aspx?Newsid188254&NewsType=1&Template) สืบค้นวันที่ 29 มิถุนายน 2554.

Adeniyi, O.J., V.O. Adetimirin, I. Ingelbrecht and R. Asiedu. 2008. Shoot and plantlet regeneration from meristems of *Dioscorea rotundata* Poir and *Diocsorea alata* L. Afr. J. Biotechnol. 7(8): 1003– 1008.

Behera K. K., S. Sahoo and A. Prusti. 2008. Effect of plant growth regulator on *in vitro* micropropagation of ‘ Bitter Yam’ (*Dioscorea hispida* Dennst.). IJIB. 4(1):50-52.

Bhat S.R. and K.P.S. Chandel. 1991. A novel technique to overcome browning in tissue culture. Plant Cell Reports 10(6): 358–361.

Chen, Y., J. Fan, Yi-Fei, Z. Luo and Y. Fu. 2003. Rapid clonal propagation of *Dioscorea zingiberensis*, Plant Cell Tiss. Org. Cult. 73(1): 75-80.

Huabing Y., Y. Litao and L. Yangrui. 2011. Axillary shoot proliferation and tuberization of *Dioscorea fordii* Prain et Burk . Plant Cell Tiss Organ Cult .104:193–198.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15: 473-497.

Poornima, G.N. and R.V. Ravishankar. 2007. *In vitro* propagation of wild yams, *Dioscorea oppositifolia* (Linn) and *Dioscorea pentaphylla* (Linn). Afr. J. Biotechnol. 6:2348–2352.

Santisuk, T., K. Larsen, M. Newman and K. Chayamarit. 2009. Dioscoreaceae, pp. 1-140. *In* Flora of Thailand.

Satour, M., A.C. Mitaine-Offer and M.A. Lacaille-Dubois. 2007. The Dioscorea genus : A review of bioactive steroid saponins. J. Nat. Med. 61: 91-101.

Schenk, R.U. and A.C. Hildebrandt. 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell culture. Can. J. Bot. 50: 199-204.

Sharma, S., B. Kamal, N. Rathi, S. Chauhan, V. Jadon, N. Vats, A. Gehlot and S. Arya. 2010. *In vitro* rapid and mass multiplication of highly valuable medicinal plant *Bacopa monnieri* (L.) Wettst. Afr. J. Biotechnol. 9: 8318-8322.

Shukla, S. and S.K. Shukla. 2014. *In vitro* regeneration of *Dioscorea hispida* through

nodal explants a rich source of starch. J. BioSci. 3 (1): 30-35.

Shukla, S., S. K. Shukla and S. K. Mishra. 2009. *In vitro* regeneration from seedling explants of *Stereospermum personatum* D.C. – A medicinal tree. Trees Struct. Funct. 23:409-413.

Received 8 November 2016
Accepted 12 April 2017

Yan, Y., H. Lin, Q. Dai and Q. Huang. 2002. Studies on tissue culture and rapid propagation of *Dioscorea zingiberensis*. Sichuan-Daxue-Xuebao(Ziran-Kexue-ban) 39(1)**:** 136-140.