การพัฒนาการผลิตหัวพันธุ์บุกเนื้อทรายขนาดจิ๋วเชิงพาณิชย์เพื่อใช้เป็นท่อนพันธุ์ด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

Microtuberization in *Amorphophallus oncophyllus* for Mother Plant Using the Temporary Immersion Bioreactor

รังสิมา อัมพวัน[1] นพมณี โทปุญญานนท์[2] ทิพย์สุดา ปุกมณี[1]
สมจิตต์ กิจรุ่งเรือง[3] ภูสิต ปุกมณี[4] และสุภักตร์ ปัญญา[5]

Rungsima Ampawan[1], Nopmanee Topoonyanont[2], Thipsuda Pookmanee[1]
Somjit Kitrungruang[3], Pusit Pookmanee[4] and Supak Punya[5]

[1]ฝ่ายปรับปรุงและพัฒนาพันธุกรรมพืชและสัตว์ สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290
[2] สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290
[3]ฝ่ายยุทธศาสตร์และประสานงานวิจัย สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290
[4]สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290
[5]สาขาวิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

.....

บทคัดย่อ

การพัฒนาการผลิตหัวพันธุ์บุกเนื้อทรายขนาดจิ๋วเชิงพาณิชย์ เพื่อใช้เป็นท่อนพันธุ์ด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว ในปีที่ 1 ได้ทำการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการผลิตหัวพันธุ์บุกเนื้อทรายขนาดจิ๋วในสภาพปลอดเชื้อและในสภาพอาหารแข็ง โดยทำการทดลอง 1) ผลของขนาดชิ้นส่วนตั้งต้นร่วมกับน้ำตาลซูโครส พบว่า ชิ้นส่วนตั้งต้นจากตาที่มี ความสูงยอด 0.8 เซนติเมตร ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 ก/ล สามารถเพิ่มขนาดของหัวได้มากที่สุด คือ 1.03 เซนติเมตร และมีการเจริญเติบโตทางลำต้นดีที่สุด 2) ผลของน้ำตาลซูโครสร่วมกับ NAA ปรากฏว่า การใช้น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 30 และ 60 ก/ล ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1.0 มก/ล เพิ่มขนาดของหัวได้มากที่สุด คือ 1.46 และ 1.43 เซนติเมตร ตามลำดับ และ 3) ผลของ BA ต่อการเพิ่มขนาดของหัว โดยทดลอง BA ความเข้มข้น 0-0.5 มก/ล พบว่า BA ความเข้มข้น 0.4 มก/ล เหมาะสมต่อการเพิ่มขนาดของหัวมากที่สุด เนื่องจากมีความกว้างของหัวและน้ำหนักสดมากที่สุด คือ 1.38 เซนติเมตร และ 1.37 กรัม ตามลำดับ

จากนั้นนำผลการทดลองความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารแข็งที่ให้ขนาดหัวใหญ่ที่สุด มาปรับเพื่อทำการผลิตหัวพันธุ์บุกเนื้อทรายขนาดจิ๋วด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว (TIB) โดยลดปริมาณ NAA เหลือ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อศึกษาจำนวนครั้งในการให้อาหารของระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝดที่เหมาะสมในการสร้างหัวบุกเปรียบเทียบในอาหารแข็ง เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ พบว่า ต้นที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่มีการให้อาหารนานครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 และ 8 ครั้งต่อวัน หัวที่ได้มีขนาดใหญ่แต่การฟอร์มของหัวไม่ชัดเจน พบการแตกยอดใหม่และมีการแตกตาเล็กเป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ยังเกิดหัวบนใบด้วย อีกทั้งพบว่า มีรากจำนวนมากและเป็นรากที่ยาว โดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงใน TIB ที่มีการให้อาหาร 8 ครั้งต่อวัน เห็นการแตกตาจำนวนมากในลักษณะของการเพิ่มปริมาณอย่างชัดเจน ในขณะที่การเพาะเลี้ยงบุกเนื้อทรายในอาหารแข็งสามารถชักนำการเกิดหัวที่กลมชัดเจน แต่ไม่มีการงอกของยอดใหม่ และมีการแตกตาข้างขนาดเล็กเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

นำอาหารพื้นฐานสูตรเดียวกับที่ใช้ในระบบ TIB คือ อาหารที่ประกอบด้วยซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และ NAA 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร มาทำการทดลองต่อโดยใช้ต้นบุกเนื้อทราย ขนาดความสูง 4.0 เซนติเมตร มีส่วนฐาน 0.3 เซนติเมตร เป็นชิ้นส่วนตั้งต้นเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อโดยไม่ทำการเก็บเกี่ยวเป็นเวลานาน 6, 7 และ 8 เดือน เพื่อศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสม ในการเก็บรักษาหัวบุกเนื้อทรายในสภาพปลอดเชื้อ พบการเกิดหัวบริเวณส่วนฐาน จากนั้นต้นมีการยุบตัวและแทงต้นใหม่ขึ้นมาแทนโดยไม่มีการพักตัว และมีการเกิดหัวใหม่บนหัวเดิมทำให้ความยาวหัวเพิ่มขึ้นและเสียรูปทรง โดยระยะเวลาที่เก็บเกี่ยวหัวให้ผลไม่แตกต่างกันในด้านขนาดความกว้างหัว (0.87-0.91 เซนติเมตร) ความยาวหัว (1.52-1.56 เซนติเมตร) น้ำหนักสดหัว (0.90-0.97 กรัมต่อหัว) และเมื่อทำการคัดขนาดหัว พบว่า ทุกกรรมวิธีมีขนาดความกว้างหัวอยู่ในช่วง 0.6-1.0 เซนติเมตร มากที่สุด (76.2, 72.6 และ 69.1% ตามลำดับ) รองลงมา คือ 1.1-1.5 เซนติเมตร น้อยกว่า 0.5 เซนติเมตร และ 1.6-2.0 เซนติเมตร ตามลำดับ

และเมื่อนำต้นบุกเนื้อทรายที่ได้จากการออกรากในห้องปฏิบัติการ ย้ายปลูกและทำการปรับสภาพต้นในโรงเรือนนาน 3 เดือน ลงปลูกทดสอบในแปลงปลูกที่มีระดับความเข้มแสง 4 ระดับ คือ 30, 50, 100 และภายใต้สภาพร่มเงา ร่วมกับระยะปลูก 2 ระยะ คือ 40x40 และ 60x60 เซนติเมตร เป็นเวลานาน 5.5 เดือน พบว่า ต้นบุกที่ปลูกภายใต้สภาพความเข้มแสง 30 และ 50% ร่วมกับระยะปลูก 40x40 และ 60x60 เซนติเมตร มีการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตหัวบนใบและใต้ดินดีกว่าต้นที่ปลูกภายใต้สภาพแสง 100% และภายใต้สภาพร่มเงา ทั้ง 2 ระยะปลูก โดยมีการเจริญเติบโตด้านความยาวใบหลัก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางใบหลัก ขนาดทรงพุ่ม และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นใหม่ใกล้เคียงกัน ส่วนการให้ผลผลิตนั้น มีเปอร์เซ็นต์การเกิดหัวบนใบได้ถึง 95-100% โดยต้นที่ปลูก

ภายใต้ความเข้มแสง 30% ร่วมกับระยะปลูก 60x60 เซนติเมตร มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัวบนใบมากที่สุด (1.19 เซนติเมตร) ส่วนผลผลิตหัวใต้ดินไม่มีความแตกต่างกันทั้งขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัว (6.30-6.90 เซนติเมตร) น้ำหนักสดหัว (90.84-110.87 กรัมต่อหัว) น้ำหนักแห้งหัว (12.25-14.90 กรัมต่อหัว) รวมถึงเปอร์เซ็นต์มวลแห้งหัว (12.74-13.59%) ด้วย แต่อย่างไรก็ตามกลับพบว่า ต้นที่ปลูกภายใต้สภาพความเข้มแสง 100% และภายใต้สภาพร่มเงามีเปอร์เซ็นต์มวลแห้งของหัวมากกว่า

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหัวใต้ดินและหัวบนใบของบุกที่เก็บเกี่ยวได้จากธรรมชาติ กับหัวบุกจิ๋วที่ผลิตได้จากสภาพปลอดเชื้อ พบว่า หัวบุกจิ๋วที่ผลิตได้จากสภาพปลอดเชื้อมีปริมาณความชื้น (9.58%) โปรตีน (32.88%) ไขมัน (1.74%) เยื่อใย (4.77%) และเถ้า (13.1%) มากกว่าหัวบุกจากธรรมชาติทั้งหัวใต้ดินและหัวบนใบ โดยเฉพาะปริมาณโปรตีนมีมากถึงประมาณ 5 เท่าในหัวใต้ดิน และ 6 เท่าในหัวบนใบ มีปริมาณไขมันมากกว่าประมาณ 3 เท่า เยื่อใยมากกว่าประมาณ 2 เท่า และเถ้ามากกว่า 7.4% ในหัวใต้ดิน และ 8.12% ในหัวบนใบ แต่ในขณะเดียวกันกลับมีปริมาณของ NFE (37.93%) น้อยกว่าหัวจากธรรมชาติประมาณ 1 เท่า

คำสำคัญ: บุกเนื้อทราย การผลิตหัวพันธุ์ขนาดจิ๋ว ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว ท่อนพันธุ์

Abstract

During the first year of the research on the development of microtuberization of *Amorphophallus oncophyllus* for mother plant using the temporary immersion bioreactor, various factors suitable for *in vitro* microtuberization including: 1) effect of the size of initial explants together with sucrose which showed that explants derived from buds with size of 0.8 cm combined with 30 g/L sucrose gave the highest tuber size (1.03 cm) and highest stem growth; 2) effect of sucrose combined with NAA which indicated that 30 or 60 g/L sucrose combined with NAA (1.0 mg/L) resulted to biggest tuber size (1.46 and 1.43 cm, respectively); and 3) effect of BA (0-0.5 mg/L) towards increasing tuber size which resulted that 0.4 mg/L BA being the most suitable to increase tuber size as indicated by highest width and weight of tubers (1.38 cm and 1.37 g, respectively).

The results of the above mentioned medium study consisting of 30 g/L sucrose with NAA (1.0 mg/L) which gave the highest size of tubers, were then modified for microtuberization of *Amorphophallus oncophyllus* through temporary immersion bioreactor (TIB) to investigate the

feeding frequency in comparison with culturing in solid medium during a 4-week trial period. Results showed that tubers produced from plants cultured in TIB which were fed 5 minutes in 2 and 8 times per day were very big, although no clear tuber shape was found. Formation of new shoots and emergence of many small buds were also observed aside from those formed above the leaves. Moreover, numerous long roots were found. In particular, plants cultured in TIB and fed 8 times per day showed emergence of many buds that characterized clear multiplication. However, culture of *Amorphophallus oncophyllus* on solid medium was able to clearly induce the growth of round tubers although there was no emergence of new shoots and only few side buds.

Further study on suitable harvesting time of tuber storage cultured on solid medium with 30 g/L sucrose and 0.5 mg/L NAA was then investigated. *Amorphophallus oncophyllus* plants with 4.0 cm height and 0.3 cm width as initial explants were cultured *in vitro* without harvesting within 6, 7 and 8 months. Results showed tubers emerging from the base later starting to shrink although new plants then emerged without undergoing dormancy and new tubers forming above the existing tubers thus lengthening the tubers and causing malformation of the tuber itself. The number of days to harvesting did not show any significant difference on the width of the tubers (0.87-0.91 cm), length (1.52-1.56 cm), fresh weight (0.90-0.97 g/tuber) and sorting of tuber sizes showed that each process showed highest range of tuber width at 0.6-1.0 cm (76.2, 72.6 and 69.1%, respectively), followed by 1.1-1.5 cm, 0.5 cm and 1.6-2.0 cm, respectively.

And when *Amorphophallus oncophyllus* plants with emerged roots *in vitro* were transplanted and then allowed to adopt to greenhouse conditions for 3 months and later planted in field plots with light intensity of 4 levels (30, 50, 100 % shading) and plant spacing of 2 levels (40x40 cm^2 and 20x60 cm^2) for 5.5 months, results showed that plants in 30 and 50% shading together with 40x40 cm^2 and 60x60 cm^2 exhibited growth and produced better tubers above leaves and underground than those plants with 100% light exposure and under shaded conditions in both spacing levels. Growth was observed in terms of length of main leaf, diameter of main leaf, size of foliage and percentage of new plant emergence which showed similar values. As for plant yield, percentage of tuber emerging above the leaves ranged from 95-100% as exhibited by plants exposed to 30% light in 60x60 cm^2 spacing and highest diameter of tubers above the leaves (1.19 cm). In terms of tubers emerging underground, there was no significant difference in tuber diameter (6.30-6.90 cm), fresh tuber weight (90.84-110.87 g/tuber), dry tuber weight (12.25-

14.90 g/tuber) and percentage of tuber mass (12.74-13.59%), however, it was also found that plants exposed to 100% light and under shaded conditions gave better tuber mass percentage.

Results of the chemical analysis of tubers emerging under the soil and above the leaves of *Amorphophallus oncophyllus* plants which were naturally harvested and plants grown *in vitro*, showed that tubers emerging from plants grown *in vitro* conditions had higher contents of moisture (9.58%), protein (32.88%), fat (1.74%), fiber (4.77%) and ash (13.1%) than field-grown tubers in both underground and above the leaves especially in terms of protein content that was almost 5x higher in tubers under the soil and 6x in tubers above the leaves. In addition, higher contents were approximately higher for fat (3x) and fiber (2x) with ash at 7.4% (underground) and 8.12% (above leaves) but at the same time, NFE was 37.93% which was 1x lower than field-grown tubers.

Keywords: *Amorphophallus oncophyllus*, microtuberization, temporary immersion bioreactor, mother plant

คำนำ

บุก (*Amorphophallus* spp.) หรือมันเท้าช้างเป็นพืชสมุนไพรที่มีความต้องการใช้มากในอุตสาหกรรมอาหารเสริม เนื่องจากหัวบุกเป็นพืชสมุนไพรที่มีส่วนประกอบที่สำคัญ คือ กลูโคแมนแนน (glucomannan) ซึ่งคุณสมบัติของกลูโคแมนแนนมีสรรพคุณในการบำบัดรักษาโรคที่สำคัญหลายชนิด โดยลดระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยโรคเบาหวาน ลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือดที่เป็นสาเหตุของโรคไขมันในเลือดสูง และโรคเส้นเลือดหัวใจอุดตัน และที่สำคัญคือ ใช้เป็นอาหารเสริมในการควบคุมน้ำหนัก ดังนั้นจึงถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารคอนยัคกุ นอกจากนี้ยังใช้เป็นผงวุ้นเพื่อการบริโภคและใช้ในงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ ซึ่งต้องเสียเงินตรานำเข้าจากต่างประเทศ ปีละไม่น้อยกว่า 100 ล้านบาท โดยหัวบุกพันธุ์พื้นเมืองที่พบทางภาคเหนือของไทยที่มีปริมาณสารกลูโคแมนแนนสูง และเป็นส่วนประกอบหลัก คือ บุกไข่ หรือบุกเนื้อทราย (*Amorphophallus oncophyllus*) บุกพันธุ์นี้แยกจากบุกพันธุ์อื่นได้ง่าย คือ มีหัวรูปร่างกลมแบน มีรูลึกตรงกลาง และมีหัวบนใบ (bulbil) ซึ่งใช้ในการขยายพันธุ์ได้ จากปริมาณการใช้หัวบุกในภาคอุตสาหกรรมปีละไม่น้อยกว่า 2,500 ตัน ซึ่งหัวพันธุ์บุกเนื้อทรายที่จำหน่ายและส่งเข้าโรงงานโดยส่วนใหญ่มาจากการขุดหัวพันธุ์จากป่าและนำเข้าจากจีน ญี่ปุ่นและเกาหลี มีบ้างที่ปลูกเป็นการค้าแต่มีปริมาณน้อย จากการที่หัวพันธุ์บุกไม่เพียงพอกับปริมาณความต้องการของตลาด เนื่องจากหัวพันธุ์บุกส่วนใหญ่เก็บมาจากป่า ซึ่งจะมีผลให้หัวพันธุ์บุกที่มาจากป่ามีปริมาณลดน้อยลง อาจเกิดการสูญพันธุ์ได้เพราะขาดความรู้ในการเก็บเกี่ยวและการปลูกทดแทน อีกทั้งยังมีคุณภาพของหัวพันธุ์ที่ไม่สม่ำเสมอและไม่ได้มาตรฐาน เพราะยังไม่มีการปลูกอย่างจริงจังในเชิงพาณิชย์

งานวิจัยเบื้องต้นของฝ่ายวิจัย สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ที่ทำการศึกษาการขยายพันธุ์ของบุกเนื้อทรายในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งประสบความสำเร็จสามารถผลิตต้นกล้าพันธุ์บุกได้ในปริมาณที่มาก แต่มีข้อจำกัดในด้านของเวลา ซึ่งในการผลิตต้นกล้าพันธุ์นั้นต้องทำในช่วงปลายฤดูแล้งถึงต้นฤดูฝน เนื่องจากบุกสามารถเจริญเติบโตในสภาพธรรมชาติได้ในช่วงเวลานี้หากทำการออกปลูกในช่วงเวลาอื่นมีผลทำให้ต้นบุกยุบตัว เนื่องจากลักษณะทางสรีรวิทยาของบุกเอง ดังนั้นจึงควรได้รับการปรับปรุงวิธีการผลิตเพื่อจะได้วางแผนการผลิตได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยหากสามารถผลิตหัวพันธุ์บุกขนาดจิ๋วได้ตลอดปี และมีวิธีการเก็บรักษาที่ดีจะสามารถแก้ไขปัญหาดังกล่าวมาข้างต้นได้

มีการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาช่วยเพิ่มปริมาณ และขนาดหัวพันธุ์ขนาดเล็กในพืชกลุ่มไม้หัวหลายชนิด เช่น แกลดิโอลัส ลิลลี่ และทิวลิป เนื่องจากสามารถเพิ่มปริมาณต้นได้จำนวนมากในระยะเวลาสั้น ต้นที่ได้มีความสม่ำเสมอและปลอดเชื้อ ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นต้นพันธุ์

ได้เป็นอย่างดีเช่นเดียวกับการผลิตหัวพันธุ์ขนาดเล็กของมันฝรั่ง เพื่อหลีกเลี่ยงการติดเชื้อในหัวพันธุ์จากการปลูกในสภาพธรรมชาติ และสามารถผลิตได้ในปริมาณมากในบริเวณที่ขาดแคลนพื้นที่ในการผลิตท่อนพันธุ์

ดังนั้นในงานวิจัยนี้ มีเป้าหมายที่จะหาวิธีการที่เหมาะสมในการกระตุ้นให้เกิดหัวพันธุ์บุกเนื้อทรายขนาดจิ๋วในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยง ได้แก่ น้ำตาล สารควบคุมการเจริญเติบโต และสภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยง ซึ่งจะสามารถผลิตหัวพันธุ์ที่ปลอดเชื้อได้ปริมาณมากในเวลาที่รวดเร็วสำหรับใช้เป็นท่อนพันธุ์ที่มีคุณภาพสูง นอกจากนี้แล้วยังต้องการลดต้นทุนการผลิตลง โดยนำระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวมาปรับใช้ในการผลิต เพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตให้สูงขึ้น สามารถลดขั้นตอนในการทำงานลง เช่น ลดจำนวนครั้งในการเตรียมอาหาร รวมทั้งลดปริมาณอาหาร การย้ายเนื้อเยื่อ การทำความสะอาดภาชนะ และลดพื้นที่ในการวางภาชนะเพาะเลี้ยงทำให้ค่าใช้จ่ายต่างๆ ลดลง ซึ่งผลการวิจัยที่ได้นี้สามารถนำไปสู่การผลิตหัวพันธุ์และการปลูกเลี้ยงในเชิงพาณิชย์ สำหรับอุตสาหกรรมยาและอาหารเสริมสุขภาพต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการผลิตหัวพันธุ์บุกเนื้อทรายขนาดจิ๋วในสภาพปลอดเชื้อ
2. เพื่อศึกษาการผลิตหัวพันธุ์บุกเนื้อทรายขนาดจิ๋วด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว
3. เพื่อผลิตหัวพันธุ์บุกเนื้อทรายที่ปลอดโรค สำหรับใช้เป็นท่อนพันธุ์ในการปลูกและการผลิตเชิงพาณิชย์
4. เพื่อศึกษาการเก็บรักษาหัวพันธุ์บุกเนื้อทรายขนาดจิ๋วที่ผลิตได้จากสภาพปลอดเชื้อ
5. เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตในแปลงปลูกของหัวพันธุ์บุกเนื้อทรายขนาดจิ๋วที่ผลิตได้ในสภาพปลอดเชื้อ
6. เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของหัวพันธุ์บุกเนื้อทรายขนาดจิ๋วในสภาพปลอดเชื้อและสภาพแปลงปลูก
7. เพื่อพัฒนาต่อยอดงานวิจัยเดิม

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. นำไปสู่การผลิตเชิงพาณิชย์
2. เพิ่มประสิทธิภาพการผลิต โดยผลผลิตที่ได้มีความสม่ำเสมอ สามารถควบคุมปริมาณการผลิตได้ตามต้องการ และลดต้นทุนการผลิตหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตามวิธีการปกติ

การตรวจเอกสาร

บุก (*Amorphophallus* spp.) หรือมันเท้าช้าง เป็นพืชสมุนไพรที่มีส่วนประกอบที่สำคัญ คือ กลูโคแมนแนน (glucomannan) ซึ่งเป็นสารโพลีแซคคาไรด์โมเลกุลใหญ่ ประกอบด้วยน้ำตาล 2 ชนิด คือ กลูโคส และแมนโนส ซึ่งเมื่อละลายน้ำจะได้สารละลายข้นหนืดและสามารถเกิดเจลได้เมื่อใช้ร่วมกับสารละลายด่าง ปริมาณกลูโคแมนแนนในหัวบุกจะขึ้นกับชนิดของพันธุ์ และสภาพแวดล้อมในการเจริญเติบโต พันธุ์บุกที่มีปริมาณของกลูโคแมนแนนสูงพันธุ์หนึ่งคือ *Amorphophallus konjac* ซึ่งมีการเพาะปลูกในแถบตะวันออกไกลมานานนับพันปีแล้ว ชาวญี่ปุ่นได้นำหัวบุกนี้มาทำอาหารเส้นและวุ้น ที่เรียกว่า คอนนิยากุ (konnyaku) ซึ่งจะคงตัวในน้ำเดือด (หรรษา และอรนุช, 2532)

1. ถิ่นกำเนิด และแหล่งเพาะปลูกบุก

บุกเป็นพืชล้มลุก มีหัวอยู่ใต้ดิน อยู่ในตระกูล Araceae เป็นพืชพื้นเมืองอยู่ในท้องถิ่นแถบร้อนของโลก มีอยู่ 90-100 พันธุ์ ทั่วโลกพบในแอฟริกา 33 พันธุ์ ในภาคพื้นออสเตรเลียแปซิฟิค 5 พันธุ์ และในบริเวณท้องถิ่นของทวีปเอเชีย อีก 62 พันธุ์ (หรรษา, 2537) พันธุ์ที่รู้จักกันแพร่หลาย ได้แก่

พันธุ์ *A. campanulatus* พบการเพาะปลูกบุกพันธุ์นี้ในแถบอินเดียจนถึงหมู่เกาะพอลินีในมหาสมุทรแปซิฟิค และในเอเชีย บุกพันธุ์นี้ในบางครั้งถูกนำไปใช้เป็นอาหารหมู

พันธุ์ *A. rivieri* มีถิ่นกำเนิดในอินโดนีเซีย ทางตอนใต้ของจีน และถูกนำไปปลูกในญี่ปุ่นในตอนต้นของทศวรรษที่ 10 บุกหลายๆ พันธุ์ ได้ถูกพัฒนาขึ้นที่ญี่ปุ่นในปี 1979 และการเพาะปลูกทำกันเพื่อให้ได้กลูโคแมนแนนที่มีอยู่ในหัวบุก หัวบุกจะผ่านขั้นตอนต่างๆ จนได้แป้งบุก แล้วนำไปทำเป็นอาหารที่มีลักษณะคล้ายวุ้น มีความยืดหยุ่นในเนื้อที่เรียกว่า คอนนิยากุ

พันธุ์ *A. oncophyllus* และพันธุ์ *A. variabilis* มีการเพาะปลูกและเก็บเกี่ยวจากป่าของประเทศอินโดนีเซีย พม่า และไทย หัวบุกนี้ส่วนใหญ่จะถูกนำไปทำเป็นแป้ง ซึ่งแป้งที่ได้จะมีสารกลูโคแมนแนนเป็นส่วนประกอบหลัก และจะเป็นขั้นตอนแรกของการนำไปทำเป็นคอนนิยากุ (หรรษา และอรนุช, 2532; Sakai, 1979)

2. การจำแนกพันธุ์บุกในประเทศไทย

บุกที่มีถิ่นกำเนิดในเมืองไทยมีถึง 16 พันธุ์ แต่พันธุ์ที่พบทางตอนเหนือของไทย 7 พันธุ์ คือ *A. rex, A. campanulatus, A. kerrii, A. corrugatus, A. oncophyllus, A. longituberosus* และ *A. rivieri* ในจำนวน 7 พันธุ์นี้มี 3 พันธุ์ ที่มีกลูโคแมนแนนซึ่งเป็นสารสำคัญทางการค้า คือ *A. oncophyllus, A. kerrii* และ *A. corrugatus* โดยเฉพาะพันธุ์ *A. oncophyllus* นี้จะมีปริมาณของกลูโคแมนแนนอยู่สูงมาก พบทางภาคเหนือและภาคตะวันตกของประเทศ ได้แก่ จังหวัด เชียงใหม่ ลำปาง เชียงราย

แม่ฮ่องสอน ตาก และกาญจนบุรี โดยทั่วไปหัวบุกจะค่อยๆ เจริญเติบโตเรื่อยๆ จนถึง 3 ปี จะได้น้ำหนักหัว ประมาณ 8-10 กิโลกรัม (นิรนาม, 2533) ซึ่งลักษณะโดยทั่วไปของบุกแต่ละพันธุ์ คือ

1. *A. oncophyllus* เป็นบุกซึ่งมีหัวชนิดบนใบ (bulbil) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 25 เซนติเมตร ใบขนาดใหญ่ 1 เมตร ก้านใบยาว 90 เซนติเมตร หนา 2.5 เซนติเมตร มีกาบหุ้ม บุกพันธุ์นี้แยกจากบุกพันธุ์อื่นได้ง่าย คือ รูปร่างของหัวซึ่งกลม แบน มีรูลึกตรงกลาง หัวสดมีสีต่างๆ ได้แก่ เหลืองอมชมพู และขาวเหลือง เป็นต้น นิ่มและฉ่ำน้ำ ก้านใบมีสีต่างๆ ได้แก่ เขียว เขียวมีจุดขาว เขียวทางขาว และเขียวมีชมพูปน และมี bulbil บนใบ

2. *A. kerrii* เป็นพันธุ์ที่มีหัวขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7-15 เซนติเมตร ผิวมัน ใบเดี่ยว ใบแยกเป็นส่วน ส่วนข้างขนาด 5-7.5 เซนติเมตร x 3-5.5 เซนติเมตร ส่วนกลาง 15-21.5 เซนติเมตร ก้านใบยาว 1 เมตร ช่อดอกยาว 15-30 เซนติเมตร กว้าง 7-11 เซนติเมตร มีกาบหุ้มบุกพันธุ์นี้แยกจากบุกพันธุ์อื่นที่รูปร่างของหัว ซึ่งกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9.5-15 เซนติเมตร มีผิวขรุขระสีน้ำตาล หัวสดมีสีเหลือง เหลืองสดหรือขาว ต้นสีเขียวเข้มมีจุดขาว ก้านดอกยาว รังไข่มีก้านเกสรตัวเมียยาว เกสรตัวผู้เป็นชนิด capitates มีสีขาว ก้านสีขาวพบแถบ น่าน เชียงใหม่ เลย และกาญจนบุรี หรือที่มีระดับความสูง 1,200-1,500 เมตร เหนือระดับน้ำทะเล

3. *A. corrugatus* มีใบหลายใบ ช่อดอกมีกาบหุ้มยาว 7-17 เซนติเมตร กว้าง 3-7 เซนติเมตร รูปกระดิ่ง แยกจากพันธุ์อื่นตรงที่ใบมีหลายส่วนโดยมาก 7 ส่วน สีน้ำเงินอมเขียว ขอบใบสีชมพู

3. องค์ประกอบด้านชีวเคมีของหัวบุก

องค์ประกอบภายในหัวบุกจะขึ้นอยู่กับหลายๆ ปัจจัย เช่น ด้านสิ่งแวดล้อม การเพาะปลูก และชนิดของพันธุ์ หัวบุกพันธุ์ *A. campanulatus* จะมีปริมาณแป้งสูง มีปริมาณโปรตีนพอสมควร แต่พันธุ์ *A. oncophyllus* จะมีส่วนประกอบหลักก็คือ กลูโคแมนแนน หรือ เส้นใยอาหาร และมีปริมาณแป้งต่ำ (Sakai, 1979) Ohtsuri *et al.* (1976) ได้รายงานไว้ว่า ในหัวสดของบุก *A. konjac* จะประกอบด้วย น้ำหนักแห้ง 20 เปอร์เซ็นต์ และในส่วนนี้จะมีปริมาณของแมนแนนอยู่ 64 เปอร์เซ็นต์ และแป้ง 10.6 เปอร์เซ็นต์

กลูโคแมนแนนเป็นสารอาหารประเภทเส้นใยที่มีประโยชน์ คือ ช่วยเพิ่มระยะเวลาที่อาหารจะอยู่ในกระเพาะ (gastric emptying time) ให้พลังงานต่ำ ลดปริมาณโคเลสเตอรอลในเส้นเลือด และควบคุมปริมาณน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยโรคเบาหวาน (หรรษา และอรนุช, 2532) ลักษณะเฉพาะอย่างหนึ่งของกลูโคแมนแนนนี้ก็คือ เมื่อสัมผัสน้ำจะสามารถดูดน้ำแล้วพองตัวได้เพิ่มขึ้นถึง 200 เท่า จากปริมาณเดิม (www.alternatein.com) และมีความหนืดเพิ่มขึ้น เมื่อคนเราบริโภคอาหารที่มีกลูโคแมนแนนเข้าไป จะทำให้รู้สึกอิ่มได้ง่ายโดยไม่ได้รับพลังงานเพิ่มขึ้น จากการที่กลูโคแมนแนนเป็นเส้นใยอาหารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบกับการกิน

อาหารประเภทเส้นใยชนิดอื่นแล้ว ก็จะเห็นว่าการบริโภคกลูโคแมนแนนเพียงเล็กน้อย แต่จะได้ประโยชน์เทียบเท่ากับการบริโภคอาหารประเภทเส้นใยอื่นๆ ในปริมาณที่มาก ด้วยเหตุนี้เองกลูโคแมนแนนจึงเป็นสารอาหารที่สำคัญมากในการนำมาทำเป็นอาหารที่ให้พลังงานต่ำ

ปริมาณของสารกลูโคแมนแนนจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์และสภาพในการเจริญเติบโต กลูโคแมนแนนที่ได้จากพันธุ์ *A. rivieri* (คอนจัก แมนแนน) พันธุ์ *A. oncophyllus* และพันธุ์ *A. variabilis* มีปริมาณเท่ากับ 64, 55 และ 44 กรัมต่อน้ำหนักแห้งของหัวบุกที่กล่าวไว้ข้างต้นตามลำดับ (Sugiyama *et al.*, 1972a; Sugiyama *et al.*, 1972b) สารกลูโคแมนแนนมีในใบและลำต้นเช่นเดียวกับที่พบในหัว แต่ในรากที่เจริญเต็มที่จะมีปริมาณของกลูโคแมนแนนอยู่ในระดับที่สูงที่สุด (Ohtsuki, 1976; Mackaji *et al.*, 1985) ปริมาณของแมนแนนจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เพาะปลูกไว้มากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักหัวสด ในขณะที่ปริมาณของแป้งในหัวบุกจะคงที่ประมาณ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ตลอดระยะเวลาการเจริญเติบโต (Murate,1972)

สารอื่นๆ ที่จะพบในพืชตระกูล Araceae ได้แก่ ออกซาเลท ซึ่งเป็นสารเผ็ดร้อน อยู่ในใบและหัวของบุก ด้วยรสชาติที่เผ็ดร้อนนี้เอง ทำให้สัตว์ทั้งหลายหลีกเลี่ยงพืชในตระกูลนี้ ออกซาเลทที่เกิดนี้จะมีลักษณะอยู่ในรูปที่ใกล้เคียงกับที่มีอยู่ในสิ่งมีชีวิต ซึ่งอาจจะอยู่ในรูปเกลือที่ละลายน้ำได้ เช่น โพแทสเซียม โซเดียม หรือแอมโมเนียมออกซาเลท (Muenscher, 1961) ส่วนแคลเซียมออกซาเลทซึ่งเป็นเกลือที่ไม่ละลายน้ำและเป็นสารที่มีประโยชน์ต่อมนุษย์น้อยมากเมื่อเทียบกับสารประกอบออกซาเลทที่ละลายน้ำได้ชนิดอื่นๆ (Hodgkinson, 1977) หากบริโภคหัวสดหรือใบที่มีผลึกของออกซาเลทเข้าไปมากๆ จะทำให้เกิดแผลพองบริเวณ มิวคัส เมมเบรน (mucous membrane) ของปากและคอ ถ้าบริโภคเข้าไปเป็นจำนวนมากอาจทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบได้ (Muenscher, 1961) มีอาการชัก ช็อค ระดับแคลเซียมในเลือดต่ำ ปริมาณออกซาเลทในเลือดสูง และไตถูกทำลาย (Fassett, 1973) หากนำหัวบุกมาให้ความร้อนหรืออบแห้งสารเหล่านี้จะถูกทำลายได้ ในพันธุ์ *A. campanulatus* ผลึกแคลเซียมจะพบเป็นจำนวนมากเฉพาะบริเวณเปลือกนอกเท่านั้น เมื่อปลอกเอาส่วนผิวออกจะเหลืออยู่เพียง 400 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ในส่วนของเนื้อจะมีปริมาณแคลเซียมในปริมาณต่ำ ด้วยเหตุนี้พันธุ์นี้จึงสามารถนำมาบริโภคได้ ส่วนเนื้อของพันธุ์อื่นๆ จะมีปริมาณแคลเซียมออกซาเลทมากกว่าทำให้ไม่สามารถนำมาบริโภคได้ ดังนั้น จึงต้องมีการกำจัดเอาออกซาเลทที่มีในหัวบุกออกไปให้อยู่ในปริมาณที่ปลอดภัย (น้อยกว่า 100 มิลลิกรัม) (Holloway *et al.*, 1989; Bharadwad and Chandra, 1986)

นอกจากนี้ในหัวบุกยังมีสารโพลีฟีนอล (พงษ์ชัย, 2536) จากการสกัดหัวบุกที่ฝานเป็นชิ้นบางแล้วด้วยเอทานอลแล้วทำการวิเคราะห์ด้วยโครมาโทกราฟฟีกระดาษ 2 ทิศทาง (two dimensional paper chromatography) พบสารโพลีฟีนอล 4 ชนิด ซึ่งเป็นส่วนที่ทำให้เกิดสีน้ำตาลในหัวบุก จาก

การศึกษาพบว่า เมื่อปริมาณสารโพลีฟีนอลในพืชสูงขึ้น จะทำให้การทำงานของเอนไซม์อัลฟาและเบต้าอะไมเลสลดลง

การศึกษาองค์ประกอบบางชนิดในพืชเพื่อให้ทราบถึงคุณภาพของพืชนั้นๆ เพื่อนำมาใช้เป็นสารที่เหมาะต่อการบริโภค โดยทั่วไปจะทำการวิเคราะห์ความชื้น (moisture) โปรตีน (crude protein) ไขมัน (crude fat) เยื่อใย (crude fiber) เถ้า (ash) และ NFE (Nitrogen Free Extract)

การวิเคราะห์ความชื้น

การวิเคราะห์ความชื้นจะได้ข้อมูลสำหรับการปรับปรุงสภาพของพืช ว่าจำเป็นต้องลดความชื้นลงอีกหรือไม่จึงจะเก็บรักษาไว้ได้อย่างปลอดภัยเพื่อจัดจำหน่ายต่อไป การหาค่าความชื้นทำได้หลายวิธี สำหรับวิธีที่ง่ายที่สุด คือ วิธีอบแห้งด้วยลมร้อน (hot air-oven method) ซึ่งนิยมใช้กันทั่วไปในปัจจุบัน ทั้งนี้เนื่องจากทำได้ง่าย สะดวก และมีความถูกต้องมาก การอบแห้งด้วยลมร้อนเป็นวิธีที่ใช้คำนวณหาปริมาณน้ำที่สูญเสียไปหลังจากที่ทำให้ตัวอย่างพืชแห้งแล้ว (ภูสิต, 2541)

การวิเคราะห์โปรตีน

การวิเคราะห์โปรตีนตามวิธีของเจดาห์ล (Kjeldahl method) เป็นการวิเคราะห์เพื่อหาเปอร์เซ็นต์โปรตีนที่ได้เป็นค่าโดยประมาณที่เรียกว่า โปรตีนรวม (crude protein) การวิเคราะห์หาโปรตีนหาได้โดยการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดโดยหลักการที่ว่า ไนโตรเจนที่พบในสารอินทรีย์ส่วนใหญ่มาจากโปรตีนวิธีการหาไนโตรเจนทั้งหมด ทำได้โดยการเปลี่ยนไนโตรเจนที่มีอยู่ในตัวอย่างพืชให้กลายเป็นแอมโมเนียซัลเฟต $(NH_4)_2SO_4$ โดยย่อยตัวอย่างพืชในกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) เข้มข้น จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้น เพื่อให้ไนโตรเจนเปลี่ยนไปอยู่ในรูปแก๊สแอมโมเนีย (NH_3) นำมากลั่นเพื่อให้เกิดแก๊สแอมโมเนียระเหยออกมา แล้วทำการจับแก๊สแอมโมเนียด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก นำสารละลายที่ได้มาไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จากนั้นคำนวณหาปริมาณของไนโตรเจน แล้วคูณด้วย 6.25 จะได้ค่าเปอร์เซ็นต์โปรตีนในพืชตัวอย่าง (ภูสิต, 2541)

ขั้นตอนการวิเคราะห์หาโปรตีนสามารถแยกออกเป็น 4 ขั้นตอน

ขั้นที่ 1 การย่อย (Digestion)

$$\text{Sample} + H_2SO_4 \longrightarrow (NH_4)_2SO_4 + CO_2 + H_2O$$

ขั้นที่ 2 การกลั่น (Distillation)

$$NaOH + (NH_4)_2SO_4 \longrightarrow NH_3\ (\text{ammonia (gas)}) + Na_2SO_4$$

ขั้นที่ 3 การตรึง (Fixation)

$$2NH_3 + H_2SO_4 \longrightarrow (NH_4)_2SO_4$$

ขั้นที่ 4 การไทเทรต (Titration)

$$H_2SO_4 + 2NaOH \longrightarrow Na_2SO_4 + H_2O$$

การวิเคราะห์หาไขมัน

จากการทดลองวิธีการแยกไขมัน และน้ำมันจากบุกตัวอย่าง โดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent Extraction) ตัวทำละลายที่ใช้ต้องมีสมบัติเป็นตัวละลายไขมันที่ดีและไม่มีพิษ (ภูสิต, 2541)

การวิเคราะห์หาเยื่อใย

การวิเคราะห์หาสารเยื่อใยในบุกตัวอย่างสามารถกระทำได้โดยการต้มตัวอย่างด้วยกรดซัลฟิวริกเป็นเวลานาน 30 นาที นำตัวอย่างไปกรองขณะร้อนจนแห้งสนิท จากนั้นนำกากตัวอย่างที่ได้มาต้มกับด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นเวลา 30 นาที นำตัวอย่างมากรองขณะร้อนอีกครั้ง แล้วนำส่วนที่เป็นกากไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส ทำการชั่งน้ำหนักแล้วนำน้ำหนักที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์เยื่อใย (ภูสิต, 2541)

การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า

เถ้า (Ash) หมายถึงปริมาณสารอินทรีย์ที่มีอยู่ในพืชตัวอย่างที่ทำการสกัดน้ำมันออกแล้ว หลังจากที่เผาผลาญสารอินทรีย์หมดแล้ว โดยทำการเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง (ภูสิต, 2541)

Nitrogen Free Extract (NFE) หรือ Non Structural carbohydrate

Nitrogen Free Extract (NFE) หรือ Non Structural carbohydrate เป็นคาร์โบไฮเดรตส่วนที่ย่อยได้ง่าย และนำไปใช้ประโยชน์ได้ ประกอบด้วย แป้ง และน้ำตาล แต่อาจมีส่วนของเฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ปนอยู่บ้าง ค่านี้ไม่ได้ทำการวิเคราะห์โดยตรง แต่ได้จากการคำนวณ (ภูสิต, 2541)

% NFE = % วัตถุแห้ง - % เถ้า - % โปรตีน - % ไขมัน - % เยื่อใย

การขยายพันธุ์พืชหัวชนิดต่างๆ เช่น บุก (*Amorphophallus oncophyllus*) โดยปกติจะใช้วิธีการขยายพันธุ์โดยใช้ชิ้นส่วนของหัวใต้ดินที่มีตาติดอยู่ แต่ยังพบปัญหาจากการขยายพันธุ์โดยวิธีนี้อยู่มาก เช่น หัวพันธุ์ไม่ปลอดเชื้อ ปริมาณหัวพันธุ์ไม่เพียงพอ ทำให้ปัจจุบันมีการใช้การขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงกันมากขึ้น ซึ่งนอกจากจะช่วยเพิ่มปริมาณการขยายพันธุ์ได้มากและรวดเร็วแล้ว ยังช่วยให้ต้นพันธุ์ที่ได้มีความปลอดเชื้อ สามารถใช้เป็นวิธีการในการเก็บรักษาพันธุ์พืชเพื่อการอนุรักษ์สำหรับพันธุ์ที่มีปริมาณน้อยในสภาพธรรมชาติ และยังเป็นส่วนหนึ่งของวิธีการปรับปรุงพันธุ์พืชใหม่ๆ การแลกเปลี่ยนพันธุ์พืช และเพื่อการขนส่งพันธุ์พืชเพื่อการค้าระหว่างประเทศ ซึ่งสามารถลดขั้นตอนการตรวจโรคพืชที่อาจติดมากับต้นพันธุ์ได้ นอกจากนี้แล้วยัง

สามารถใช้ในการผลิตหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วในสภาพปลอดเชื้อได้ ในการผลิตหัวพันธุ์ที่ไม่มีพื้นที่การผลิตอย่างเพียงพอ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบุกเนื้อทรายเพื่อการผลิตหัวพันธุ์มีรายงานการศึกษาโดย Jun *et al.* (2001) ได้ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบุก คือ *Amorphophallus albus* และ *A. konjac* โดยใช้ส่วนของไรโซมหัวพันธุ์ และเมล็ดในอาหารที่กระตุ้นให้เกิดแคลลัส โดยเกิดแคลลัสได้ดีที่สุดจากชิ้นส่วนของไรโซมในอาหาร MS สูตรดัดแปลงที่เติม BA และ NAA 0.5 มก/ล ซึ่งแคลลัสที่เกิดขึ้นได้พัฒนาเป็นหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วที่สามารถใช้เป็นชิ้นส่วนตั้งต้นในการปลูกในสภาพแปลงได้ ซึ่งตรงกับงานวิจัยของ Biotechnology Institute of Guizhou (1994) ที่สามารถกระตุ้นให้เกิดหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วของบุกทั้ง 2 ชนิดดังกล่าว แต่ใช้ชิ้นส่วนจากหัวพันธุ์ ยอด ก้านใบ และดอก เพาะเลี้ยงในอาหารดัดแปลงสูตร MS ที่มีอัตราส่วนของ BA และ NAA เท่ากับ 2:8 ที่อุณหภูมิ 26-28 องศาเซลเซียส และจากงานวิจัยของรังสิมา และคณะ (2544) ยังพบว่าในระยะการออกรากของบุกเนื้อทราย (*A. oncophyllus*) โดยใช้อาหาร MS ที่มี NAA 0.25-1.0 มก/ล พบว่า NAA ทุกความเข้มข้นช่วยกระตุ้นให้เกิดการพัฒนาของหัวบุกเนื้อทรายได้ โดย NAA ความเข้มข้น 0.50 มก/ล ให้น้ำหนักสดของหัวสูงที่สุด

นอกจากนี้ยังมีรายงานการเกิดหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วในพืชชนิดอื่นๆ ในสภาพปลอดเชื้ออีก เช่น การกระตุ้นให้เกิดหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วของ wild *Cyclamen persicum* Mill โดย Karam and Al-Majathoub (2000) ที่ใช้ชิ้นส่วนเริ่มต้นจากรากของต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มาเพาะเลี้ยงในอาหาร 1/2MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ NAA 0.1 มก/ล และ BA 1.0 มก/ล ซึ่งสามารถเกิดหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส 6 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เกิดหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วได้ปริมาณต่ำกว่าแต่ให้น้ำหนักหัวและขนาดหัวเฉลี่ยสูงที่สุด และการกระตุ้นให้เกิดหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วของ *Xanthosoma sagittifolium* (Omokolo *et al.*, 2003) โดยการใช้ต้นเป็นชิ้นส่วนตั้งต้นเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BAP พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วสูงที่สุดถึง 83 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารเพาะเลี้ยงที่มี BAP ความเข้มข้น 30 μM และน้ำตาลซูโครส 80 ก/ล ภายใต้สภาพแสงวันสั้น แต่จำนวนหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วต่อต้นมีมากที่สุดภายใต้การเพาะเลี้ยงในสภาพแสงวันยาว (12 หัวต่อต้น) รวมทั้งมีน้ำหนักสดของหัวต่ำที่สุดด้วย นอกจากนี้การกระตุ้นให้เกิดหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วยังสามารถกระตุ้นได้ในอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต แต่มีอัตราส่วนของ NO_3^- : NH_4^+ ที่ 1:1 และ 2:1 ในสภาพแสงวันสั้นจะให้จำนวนหัวต่อต้นและน้ำหนักสดหัวมากที่สุด

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วส่วนใหญ่ จะทำการวิจัยในมันฝรั่ง (*Solanum tuberosum*) ซึ่งง่ายสำหรับการเก็บรักษาพันธุ์และการขนส่ง เป็นการผลิตหัวพันธุ์เพื่อการค้าที่ปลอดโรค และผลิตในปริมาณมากโดยไม่จำเป็นต้องใช้พื้นที่ในการผลิตหัวพันธุ์ในสภาพ

แปลงปลูก แต่เป็นการผลิตในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งมีรายงานถึงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการพัฒนาหัวพันธุ์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ ดังนี้

1. ชนิดและปริมาณน้ำตาล จากงานทดลองของ Khuri and Moorby (1995) ที่ผลิตหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วของมันฝรั่งพันธุ์ Estima ในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้น้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิต 4 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับน้ำตาลมอลโตส กลูโคส หรือฟรุคโตส พบว่า อาหารเพาะเลี้ยงที่มีเฉพาะน้ำตาลซูโครสปริมาณ 400 mM เหมาะสมที่สุดในการใช้เป็นอาหารในการกระตุ้นในเกิดหัวพันธุ์ขนาดจิ๋ว แต่เมื่อเปลี่ยนเป็นน้ำตาลเฮกโซสที่ความเข้มข้นเดียวกัน กลับพบว่าน้ำตาลเฮกโซสให้ผลดีกว่า แต่ถ้าความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสสูงถึง 8 เปอร์เซ็นต์ กลับมีผลยับยั้งการเกิดหัวพันธุ์ขนาดจิ๋ว ในขณะที่ Gopal *et al.* (1998) กลับพบว่าน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นสูง 60-80 ก/ล ส่งเสริมให้เกิดหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วในปริมาณที่มาก และเมื่อ Rafigue *et al.* (2004) ใช้น้ำตาลซูโครส 6 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 1 µM จะให้จำนวนหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วมากที่สุด และยังมีผลต่อความสูงต้น และความยาวรากอีกด้วย

2. สารควบคุมการเจริญเติบโต Zhang *et al.* (2005) พบว่า IAA, GA และ BAP มีผลต่อการเกิดหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วของมันฝรั่งในสภาพปลอดเชื้อ โดยอาหารเพาะเลี้ยงที่มี IAA ความเข้มข้นสูง (2.5–10 mg/dm^3) ทำให้เกิดหัวพันธุ์เพิ่มขึ้น และยังทำให้น้ำหนักสดและเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวเพิ่มมากขึ้นถึง 409.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม นอกจากนี้การใช้ BAP ความเข้มข้น 22.19 µM และ 2,4-D 2.26 µM ในอาหาร MS พบว่าสามารถกระตุ้นการสร้างหัวขนาดจิ๋วใน *S. comersonii* Dun. และ *S. acaule Bitt* (Anjum *et al.*, 1997)

3. สารชะลอการเจริญเติบโต (Growth retardant) การใช้สารยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชในการเพาะเลี้ยง *Solanum tuberosum* L. เพื่อกระตุ้นให้เกิดหัวจิ๋ว พบว่า การใช้ chlormequat สามารถกระตุ้นให้เกิดหัวขนาดจิ๋วได้ แต่ทำให้น้ำหนักสดหัวลดลง และหากใช้ความเข้มข้นสูงขึ้นสามารถยับยั้งการเกิดหัวได้เช่นกัน ซึ่งการใช้ daminozide ก็ให้ผลในทำนองเดียวกัน ส่วนการใช้ ancymidol และ paclobutrazol ในความเข้มข้นที่เท่ากันจะไม่ชะลอการเจริญเติบโตของหัวขนาดจิ๋ว แต่ที่ความเข้มข้น 10^{-5} M จะชะลอการงอกของตาบนหัวขนาดจิ๋วในสภาพปลอดเชื้อ (Harvey *et al.*, 1991)

4. สารยับยั้งการเจริญเติบโต (Growth inhibitor) ASA (acetylsalicylic acid) เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช แต่สามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้างหัวพันธุ์ของมันฝรั่งพันธุ์ Russet Burbank ในสภาพปลอดเชื้อได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 10^{-5}-7.5×10^{-4} mol/l เมื่อใช้ร่วมกับ CCC (chlorocholine chloride) แต่เมื่อใช้เฉพาะ ASA หรือ BAP ในอาหารสามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้างหัวพันธุ์ได้เพียง 40-70 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีการเกิดหัวพันธุ์เลยในอาหารที่มีเฉพาะ CCC (Lopez and Scott, 1997)

5. สารกลุ่ม carboxylic acid มีบทบาทต่อการพัฒนาหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วของมันฝรั่งในสภาพปลอดเชื้อ โดยพบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อในที่มืด ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส จะยับยั้งการเกิด stolon และการเกิดราก แต่จะมีผลต่อน้ำหนักแห้งของหัว เนื่องจากสารกลุ่มนี้ช่วยสร้างแป้งและน้ำตาลสะสมในหัวพันธุ์มาก โดยเฉพาะการใช้ acetic acid จะทำให้มีน้ำหนักแห้งของหัวพันธุ์มากที่สุด ซึ่งจะมีผลดีต่อการเก็บรักษาหัวพันธุ์ ยับยั้งการพักตัว และการงอกของหัวพันธุ์ (Sharma *et al.*, 2004) นอกจากนี้แล้วยังมีการใช้ jasmonic acid (JA) ในการกระตุ้นการเกิดหัวขนาดจิ๋วในมันฝรั่ง 2 สายพันธุ์ คือ Sangre, Russet Burbank โดยพบว่า ในพันธุ์ Russet Burbank การใช้ JA ความเข้มข้น 2.5 µM เพาะเลี้ยงต้นแม่พันธุ์ก่อนนำชิ้นส่วนข้อไปเพาะเลี้ยงให้ผลไม่แตกต่างกัน แต่ในพันธุ์ Sangre ให้ผลดีกับการใช้ JA เพาะเลี้ยงต้นแม่พันธุ์ก่อนนำชิ้นส่วนข้อมาเพาะเลี้ยง (Pruski *et al.* 2002) เช่นเดียวกับ Pelacho and Mingo-Castel (1991) ได้ใช้ JA ในอาหารดัดแปลงสูตร MS ในการชักนำให้เกิดหัวพันธุ์ของมันฝรั่งด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากชิ้นส่วนของ stolon โดยพบว่าการใช้ JA ความเข้มข้น 5 µM ทำให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของหัวพันธุ์ รวมทั้งจำนวนหัวพันธุ์มีมากที่สุด แต่การใช้ JA ที่ความเข้มข้นมากกว่า 0.5 µM ทำให้ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงไม่เกิดราก

6. สภาพการเพาะเลี้ยง Teixeira and Pinto (1991) ได้ทำการผลิตหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วของมันฝรั่งพันธุ์ Bintje โดยเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีไนโตรเจน และ BAP ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า มีการพัฒนาของหัวพันธุ์เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 30 วัน ที่อุณหภูมิ 26-27 องศาเซลเซียส ในที่มืด โดยมีการพัฒนาจำนวนหัวพันธุ์และน้ำหนักสดดีที่สุดในอาหารที่เติม BAP ร่วมกับน้ำตาลแซคคาโรส 6 เปอร์เซ็นต์ และจากการชักนำให้เกิดหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วของมันฝรั่งโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อภายใต้สภาพการเพาะเลี้ยงต่างๆ กัน (Gopal *et al.*, 1997) พบว่า การเพาะเลี้ยงภายใต้สภาพแสง 10 ชั่วโมงต่อวัน อุณหภูมิ 18-20 องศาเซลเซียส จะให้ผลผลิตหัวพันธุ์สูงที่สุด คือ มีจำนวน 2 หัวต่อต้น และมีน้ำหนักของหัวพันธุ์รวม 225 มิลลิกรัม และเมื่อเพาะเลี้ยงภายใต้สภาพดังกล่าวในอาหารที่มี BAP พบว่า หัวพันธุ์ขนาดจิ๋วจะมีน้ำหนักรวมเพิ่มขึ้นจาก 255 มิลลิกรัม เป็น 645 มิลลิกรัมต่อต้น โดยมีน้ำหนักเฉลี่ย 364 มิลลิกรัมต่อหัว

7. การเพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ การพัฒนาระบบการผลิตต้นพันธุ์และหัวพันธุ์ของมันฝรั่ง ด้วยการใช้ไบโอรีแอคเตอร์อย่างง่ายที่ไม่มีการเติมอากาศ แต่อากาศสามารถผ่านเข้า-ออกได้ทางเยื่อกรองบริเวณฝาของภาชนะเพาะเลี้ยง ในขั้นแรกจะเป็นการกระตุ้นให้เกิดต้นในอาหาร MS (1962) ที่มีน้ำตาลซูโครส 30 ก/ล และในขั้นที่สองจะกระตุ้นให้เกิดหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วโดยเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลเป็น 90 ก/ล และให้ขวดเพาะเลี้ยงหมุนด้วยความเร็ว 1 รอบ/นาที ขณะทำการเพาะเลี้ยง ซึ่งพบว่าด้วยระบบการเลี้ยงดังกล่าวสามารถเพิ่มปริมาณหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วได้มากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงที่ไม่มีการหมุนขวดเพาะเลี้ยง (Akita and Ohta., 1998)

นอกจากนี้แล้วยังมีรายงานวิจัยที่สามารถผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่งโดยใช้ไบโอรีแอคเตอร์ ซึ่งพบว่า การเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลความเข้มข้น 80 ก/ล และมีการเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 2 สัปดาห์ สามารถผลิตหัวพันธุ์ที่มีน้ำหนักมากกว่า 1 กรัม ได้มากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงด้วยวิธีการเดียวกันแต่ไม่มีการเปลี่ยนอาหาร (Yu *et al.*, 2000)

ระบบไบโอรีแอคเตอร์สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ ระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชแบบใหม่ที่ได้ดัดแปลงถังหมัก (fermentor) ที่ใช้ในงานผลิตโปรตีนเซลล์เดียวและจุลินทรีย์ต่างๆ มาทำเป็นถังเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Bjorn *et al.*, 1994) ทั้งนี้ ไบโอรีแอคเตอร์อาจมีขนาดเล็ก วัสดุที่ใช้ทำอาจแตกต่างจากถังหมัก แต่จะมีลักษณะการทำงานคล้ายคลึงกัน กล่าวคือ มีการให้ธาตุอาหารและอากาศ ตามระยะเวลาที่ได้กำหนดไว้ เช่น ให้เป็นระยะเวลา 1 นาที 1 ครั้งต่อวัน 7 นาที 4 ครั้งต่อวัน หรือ 15 นาที 4 ครั้งต่อวัน ซึ่งลักษณะการได้รับธาตุอาหารของต้นพืชอย่างนี้พอเพียงต่อการเจริญเติบโตของต้นพืช และสามารถเพิ่มมวลของเนื้อเยื่อเจริญต่างๆ อีกทั้งยังสามารถเพิ่มปริมาณต้นพืชได้เป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ระบบนี้เป็นการทำงานกึ่งอัตโนมัติ (Teisson and Alvard, 1995) ไบโอรีแอคเตอร์ที่มีการดัดแปลงเพื่อใช้ในการขยายพันธุ์พืชเป็นครั้งแรก คือ การขยายพันธุ์ *Begonia* (Takayama and Misawa, 1981)

ข้อดีของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชโดยการใช้ไบโอรีแอคเตอร์

ระบบไบโอรีแอคเตอร์มีข้อได้เปรียบ ดังนี้

1. ลดต้นทุนในการจ้างแรงงานที่จะต้องถ่ายเนื้อเยื่อลงอาหารใหม่หรือที่เรียกว่า subculture จากการศึกษาของ Escalona *et al.* (1999) เกี่ยวกับการขยายพันธุ์ต้นอ้อย โดยการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว เปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็ง สามารถลดต้นทุนได้ 46 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Lorenzo *et al.* (1998) ยังได้ศึกษาการเพิ่มปริมาณสับปะรดในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว ทำให้สามารถลดต้นทุนการผลิตได้ 20 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับพืชที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว

2. ลดการเกิดการขาดออกซิเจนของพืช เนื่องจากมีการเติมอากาศเข้าไปในขวดโดยผ่านแผ่นกรองเชื้อให้แก่พืช

3. ลดการสะสมของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซเอทธิลีน เนื่องจากเป็นระบบเปิดทำให้อัตราการเพิ่มปริมาณต้นมากขึ้น

4. จากการให้พืชได้รับอาหารเหลวแต่ละครั้งจะทำให้เกิดฟิล์มบางล้อมรอบพืช สามารถป้องกันการแห้งของชิ้นส่วนพืชที่ทำการเพาะเลี้ยง

5. มีการป้องกันการเกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ จากการกรองอากาศด้วยแผ่นกรองเชื้อ

6. สามารถเปลี่ยนอาหารใหม่ได้ง่าย โดยไม่ต้องเปลี่ยนขวดชิ้นส่วนใหม่

7. ใช้พื้นที่ในการเพาะเลี้ยงน้อย เนื่องจากขวดมีขนาดไม่ใหญ่มากนัก แต่ให้ปริมาณของต้นพืชจำนวนมากต่อขวด

งานวิจัยที่รายงานถึงความสำเร็จในการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

พืชที่ประสบความสำเร็จจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้วยการใช้ไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว มีหลายชนิด เช่น การผลิตหัวพันธุ์ขนาดเล็กของมันฝรั่ง (*Solanum tuberosum*) (Akita and Takayama, 1994; (Teisson and Alvard, 1999) การเกิดโซมาติกเอ็มบริโอของยางพารา (*Hevea brasiliensis*) (Etienne *et al.*, 1997), *Citrus delisiosa* (Cabasson *et al.*, 1997) กาแฟ (*Coffea arabica*) (Etienne-Barry *et al.*, 1999) การเกิดยอดของสับปะรด (*Ananas comosus*) (Lorenzo *et al.*, 1998) ฯลฯ ซึ่งล้วนแต่เป็นพืชที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจ

8. การเก็บเกี่ยวและการเก็บรักษาหัวพันธุ์ ณรงค์ (2543) ทำการผลิตหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วของมันฝรั่งพันธุ์สปุนตา DTO-33, P-3, DTO-2 และ LT-2 โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากข้อในอาหารสูตร 1/2MS พบว่ามันฝรั่งพันธุ์สปุนตา P-3 และ DTO-2 พัฒนาหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วได้ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครส 8 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 2 และ 4 มก/ล และ BA 2 มก/ล ตามลำดับ โดยเพาะเลี้ยง ในที่มืด อุณหภูมิเฉลี่ย 21 องศาเซลเซียส สามารถเก็บเกี่ยวหัวพันธุ์มันฝรั่งขนาดจิ๋วได้ภายหลังจากการเพาะเลี้ยงนานกว่า 90 วัน จึงจะทำให้หัวพันธุ์มันฝรั่งขนาดจิ๋วไม่เสียรูปทรง ส่วนการเก็บรักษานั้น Gopal (1997) พบว่า หัวพันธุ์มันฝรั่งขนาดจิ๋วที่เก็บรักษาในที่มีแสงจะมีช่วงการพักตัวยาวกว่าหัวพันธุ์ที่เก็บรักษาในที่มืด โดยเฉพาะหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วที่พัฒนาจากอาหารที่มีปริมาณน้ำตาลซูโครสสูงร่วมกับ BAP 10 มก/ล สามารถเก็บรักษาในที่มีแสงที่อุณหภูมิ 6±1 องศาเซลเซียส ได้นานถึง 12 เดือน และจากการทดสอบการเก็บรักษาหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วของมันฝรั่ง 6 สายพันธุ์ (Prematilake and Mendis, 1999) ที่อุณหภูมิ 26-27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ปี เมื่อนำมาปลูกทดสอบสามารถเกิดยอดได้ เช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงในอาหารที่ปราศจากสารกระตุ้นการเจริญเติบโต

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมอาหารสังเคราะห์

อาหารพื้นฐานที่ใช้เพาะเลี้ยงบุกเนื้อทราย ได้แก่ ธาตุอาหารหลัก และธาตุอาหารรองสูตร MS (1962) โดยทำการดัดแปลงส่วนประกอบต่างๆ ดังนี้ thiamine.HCl 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร myo-inositol 100 มิลลิกรัมต่อลิตร NaFeEDTA 35 มิลลิกรัมต่อลิตร และวุ้น 8 กรัมต่อลิตร และเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ BA และ NAA ชนิดและปริมาณน้ำตาล ความเข้มข้นตามที่กำหนดในแต่ละการทดลอง นำไปปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้ได้ 5.8 จากนั้นนำไปต้มให้วุ้นละลายจนหมดแล้วจึงบรรจุอาหารสังเคราะห์ลงขวดอาหารขนาด 240 มิลลิลิตร ฝาขวดทำด้วยพลาสติกโดยบรรจุขวดละ 30 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอภายใต้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1.10 กิโลกรัมต่อตารางเมตร เป็นเวลา 15 นาที

การเตรียมชิ้นส่วนพืชที่ใช้ในการทดลอง

นำชิ้นส่วนบุกเนื้อทรายที่มีขนาดต่างๆ ตามงานทดลองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารพื้นฐานที่มี BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลานาน 6 สัปดาห์ มาใช้เป็นชิ้นส่วนตั้งต้นในงานทดลอง โดยในการทดลองนี้เมื่อวางชิ้นส่วนพืชบนอาหารสังเคราะห์เรียบร้อยแล้ว นำไปเพาะเลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิที่ 25±2 องศาเซลเซียส โดยได้รับแสง 40 $\mu mol.m^{-2}s^{-1}$ ด้วยหลอดฟลูออเรสเซนท์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน

การวางแผนการทดลอง

I ศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการผลิตหัวพันธุ์บุกเนื้อทรายขนาดจิ๋วในอาหารแข็งสภาพปลอดเชื้อ

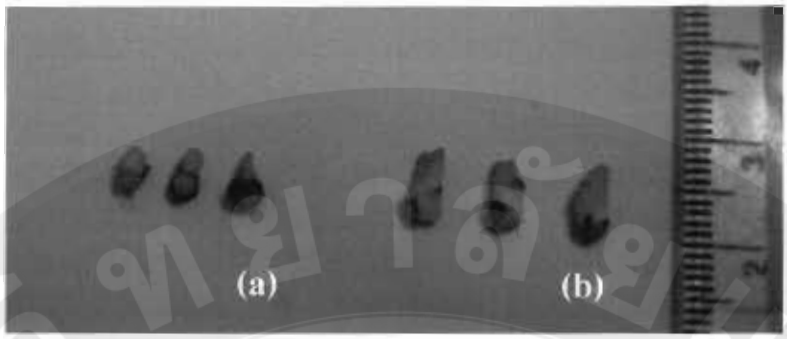
1. ผลของขนาดชิ้นส่วนตั้งต้นร่วมกับน้ำตาลซูโครสที่มีต่อขนาดของหัวพันธุ์บุกเนื้อทราย

วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ ทำการทดลอง 2 ปัจจัย คือ

1.1 ขนาดชิ้นส่วนดั้งต้นในการเพาะเลี้ยง 2 ขนาด คือ ตาขนาดเล็กที่มีความสูงของยอด 0.4 เซนติเมตร และตาขนาดใหญ่ที่มีความสูงของยอด 0.8 เซนติเมตร (ภาพที่ 1)

1.2 น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 30, 60 และ 90 กรัมต่อลิตร

โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 2x3 = 6 กรรมวิธีๆ ละ 10 ซ้ำ (ขวด)ๆ ละ 5 ชิ้นส่วน



ภาพที่ 1 ชิ้นส่วนบุกตั้งต้น (a) ตาขนาดเล็กความสูงยอด 0.4 เซนติเมตร และ (b) ตาขนาดใหญ่ความสูงยอด 0.8 เซนติเมตร

2. ผลของน้ำตาลซูโครสร่วมกับ NAA ที่มีต่อขนาดของหัวพันธุ์บุกเนื้อทราย

วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ ทำการทดลอง 2 ปัจจัย คือ

2.1 น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 30, 60 และ 90 กรัมต่อลิตร

2.2 NAA ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 0, 0.25, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

โดยทำการทดลองทั้งสิ้น 3x4 = 12 กรรมวิธีๆ ละ 10 ซ้ำ (ขวด)ๆ ละ 5 ชิ้นส่วน ชิ้นส่วนตั้งต้นใช้ตาขนาดใหญ่ที่มีความสูงของยอด 0.8 เซนติเมตร (ภาพที่ 1)

3. ผลของ BA ที่มีต่อขนาดของหัวพันธุ์บุกเนื้อทราย

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทำการทดลองทั้งหมด 6 กรรมวิธีๆ ละ 10 ซ้ำ (ขวด)ๆ ละ 5 ชิ้นส่วน

กรรมวิธีที่ 1 BA ความเข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 2 BA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 3 BA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 4 BA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 5 BA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 6 BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

อาหารเพาะเลี้ยงสูตรพื้นฐานที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชิ้นส่วนตั้งต้นใช้ตาขนาดใหญ่ที่มีความสูงยอด 0.8 เซนติเมตร (ภาพที่ 1)

II ศึกษาการผลิตหัวพันธุ์บุกเนื้อทรายขนาดจิ๋วด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

ทำการศึกษาจำนวนครั้งในการให้อาหารของระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝดที่เหมาะสมในการสร้างหัวบุกเปรียบเทียบในอาหารแข็ง

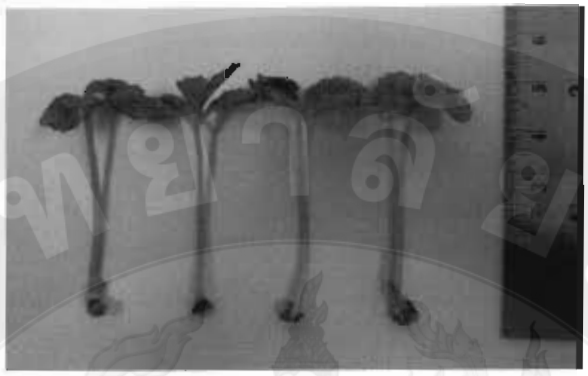
1. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design or CRD) โดยทำการศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงต้นบุกเนื้อทรายในไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝด (Twin-flask Temporary Immersion Bioreactor หรือ TIB) ที่มีการศึกษาถึงจำนวนครั้งในการให้อาหาร คือ 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน แต่ละครั้งนาน 5 นาที เปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง รวมทั้งสิ้น 3 ทรีตเมนต์ โดยทำการทดลองทรีตเมนต์ละ 4 ซ้ำ

2. วิธีการทดลอง

นำต้นบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม Thiamine HCl 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร NaFeEDTA 35 มิลลิกรัมต่อลิตร Myo-inositol 100 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร และวุ้น 8 กรัมต่อลิตร โดยปรับ pH เท่ากับ 5.8 เป็นระยะเวลา 6-8 สัปดาห์ มาตัดให้เป็นต้นเดี่ยวที่มีความสูง 4.0 เซนติเมตร และมีส่วนของฐานขนาด 0.3 เซนติเมตร เพื่อใช้เป็นชิ้นส่วนตั้งต้นที่จะนำไปทดลองการเกิดหัวบุกจิ๋วในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว (ภาพที่ 2)

นำชิ้นส่วนตั้งต้นดังกล่าวมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่เหมือนกับสูตรอาหารข้างต้น แต่เพิ่ม NAA เป็น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และไม่มีการเติม BA ทำการเพาะเลี้ยงในขวดที่มีอาหารแข็ง (ขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร) ปริมาตรเท่ากับ 200 มิลลิลิตร จำนวน 10 ต้นต่อขวด ส่วนในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวที่มีขนาดภาชนะเท่ากับขวดอาหารแข็ง ใส่ชิ้นส่วนตั้งต้นบุกจำนวน 20 ต้นต่ออาหารเหลวปริมาตร 400 มิลลิลิตร และมีการให้อาหารนานครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 ครั้ง หรือ 8 ครั้งต่อวัน ทำการเพาะเลี้ยงเป็นระยะ 4 สัปดาห์ ภายใต้สภาวะที่ให้ความเข้มแสง 40 $\mu mol/m^2$ sec เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน และอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ทำการบันทึกผลการทดลอง



ภาพที่ 2 ต้นบุกเนื้อทรายที่ตัดเป็นต้นเดี่ยว มีความสูง 4.0 เซนติเมตร มีส่วนของฐานขนาด 0.3 เซนติเมตร ใช้เป็นชิ้นส่วนตั้งต้นในการทดลองที่ II และ III

3. การบันทึกผลการทดลอง

การบันทึกผลการทดลองหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ โดยทำการบันทึกข้อมูลของลักษณะต้นที่เพาะเลี้ยง น้ำหนักสดต่อต้น ความสูงต้น ความกว้างและความยาวใบ การเกิดรากและจำนวนรากต่อต้น เปอร์เซ็นต์ต้นที่มียอดใหม่งอก จำนวนตาเล็กที่เกิดใหม่ต่อต้น ขนาดของหัว (ความกว้างและความยาวหัว) เปอร์เซ็นต์ต้นที่เกิดหัวบนใบและขนาดของหัวบนใบ แล้วนำข้อมูลดังกล่าวไปวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยโปรแกรม Statgraphics Plus 5.1

III ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเก็บรักษาหัวพันธุ์บุกเนื้อทรายในสภาพปลอดเชื้อ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทำการทดลองทั้งหมด 3 กรรมวิธีๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 12 ขวด (ขวดละ 5 ชิ้นส่วน)

กรรมวิธีที่ 1 ทำการเพาะเลี้ยงและเก็บรักษาหัวนาน 6 เดือน ในสภาพปลอดเชื้อ

กรรมวิธีที่ 2 ทำการเพาะเลี้ยงและเก็บรักษาหัวนาน 7 เดือน ในสภาพปลอดเชื้อ

กรรมวิธีที่ 3 ทำการเพาะเลี้ยงและเก็บรักษาหัวนาน 8 เดือน ในสภาพปลอดเชื้อ

อาหารเพาะเลี้ยงใช้สูตรพื้นฐานที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตรต่อลิตร ชิ้นส่วนตั้งต้นใช้ต้นบุกที่ตัดเป็นต้นเดี่ยวมีความสูง 4.0 เซนติเมตร มีส่วนของฐานขนาด 0.3 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงในอาหาร (ภาพที่ 2)

IV การปลูกทดสอบต้นบุกเนื้อทรายในแปลงปลูก

1. การเตรียมต้นกล้าบุก

นำต้นบุกที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อมากระตุ้นการออกรากของต้นกล้าบุกในเดือนเมษายน 2551 ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนาน 1 เดือน โดยเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ที่มี NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ย้ายต้นที่มีรากออกปลูกในเดือนพฤษภาคม 2551 ในกระบะปลูกที่มีส่วนผสมของวัสดุปลูก ดิน:ขี้เถ้าแกลบ:ทราย ในอัตราส่วน 2:1:2 ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นทำการปรับสภาพต้นในโรงเรือนเพาะเลี้ยงต้นกล้าอ่อน นาน 1 เดือน ในระยะนี้ต้นกล้าอ่อนจะถูกเลี้ยงในโรงเรือนที่มีการคลุมด้วยผ้าเพื่อป้องกันการระเหยของน้ำนาน 1 สัปดาห์ จากนั้นจึงค่อยๆ ลดความชื้นลง (ให้อยู่ในช่วง 75-85 เปอร์เซ็นต์) เพื่อให้ต้นกล้าบุกสามารถปรับตัวกับสภาพแวดล้อมภายนอกได้ จนกระทั่งต้นกล้าบุกตั้งตัวได้เริ่มเจริญเติบโตทั้งรากและลำต้น ในเดือนมิถุนายน 2551 จึงย้ายลงปลูกในถุงดำขนาด 3 นิ้ว ที่มีส่วนผสมของวัสดุปลูก ดิน:ขี้เถ้าแกลบ:ขุยมะพร้าว:ทราย อัตราส่วน 2:2:1:1 ทำการดูแลรดน้ำและให้ปุ๋ยเป็นเวลานาน 2 เดือน จนกล้าเจริญเติบโตดีพร้อมลงปลูก

ภาพที่ 3 (a) ต้นกล้าบุกเนื้อทราย อายุ 1 เดือนภายหลังการปรับสภาพ และ (b) ต้นบุกเนื้อทรายพร้อมลงปลูก ในแปลงทดสอบ

2. การเตรียมแปลงปลูกทดสอบ

ทำการไถพื้นที่ปลูกทดสอบจำนวน 100 ตารางวา ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัยแม่โจ้ โดยไถให้มีความลึกประมาณ 30 เซนติเมตร จากนั้นนำขี้เถ้าแกลบ แกลบดิบ และปูนขาว หว่านผสมลงไประหว่างการไถพรวนครั้งที่ 2 แล้วจึงทำการยกขอบแปลงและขุดหลุมปลูกตามแผนการทดลองและรองก้นหลุมด้วยปุ๋ยหมักมูลสัตว์ อัตรา 0.5 กิโลกรัมต่อหลุม จากนั้นจึงนำต้นบุกลงปลูกทดสอบ

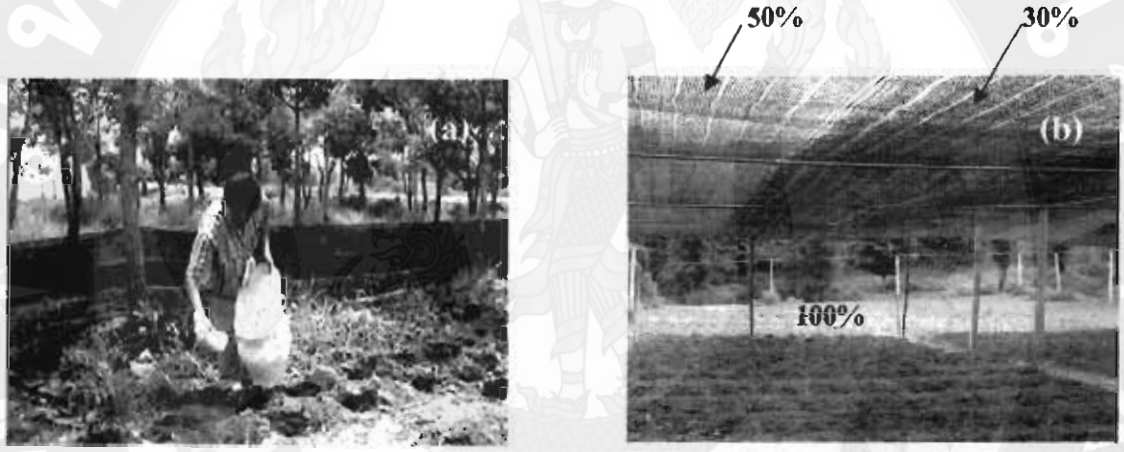
3. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD (Factorial in Completely Randomized Design) มี 2 ปัจจัย คือ

ปัจจัยที่ 1 ระดับความเข้มแสง มี 4 ระดับ คือ 30, 50, 100 เปอร์เซ็นต์ และภายใต้สภาพร่มเงา

ปัจจัยที่ 2 ระยะปลูก มี 2 ระยะ คือ 40x40 และ 60x60 เซนติเมตร

ทำการทดลองทั้งหมด 4x2 = 8 ทรีทเมนต์คอมบิเนชั่น บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 20 ต้น เดือนละ 1 ครั้ง โดยเริ่มบันทึกข้อมูลภายหลังปลูกทดสอบได้ 1 เดือน และบันทึกข้อมูลเป็นเวลานาน 4 เดือน จนต้นบุกหยุดการเจริญเติบโต จากนั้นอีก 1.5 เดือน ต้นบุกเริ่มยุบตัว จึงทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตและบันทึกข้อมูลผลผลิต



ภาพที่ 4 (a) การเตรียมแปลงปลูกต้นบุกเนื้อทรายภายใต้สภาพร่มเงา และ (b) การเตรียมแปลงปลูกต้นบุกเนื้อทรายภายใต้ระดับการพรางแสงร่วมกับระยะปลูกต่างๆ

4. การบันทึกข้อมูล ทำการบันทึกข้อมูล ดังนี้

1. ข้อมูลการเจริญเติบโต
   - 1.1 ความสูงต้น (ความยาวก้านใบหลัก)
   - 1.2 เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น
   - 1.3 ขนาดทรงพุ่ม
   - 1.4 ความยาวใบ
   - 1.5 เปอร์เซ็นต์ต้นที่เกิดใหม่
   - 1.6 จำนวนต้นที่เกิดใหม่

2. ข้อมูลการให้ผลผลิต

2.1 หัวบนใบ

2.1.1 เปอร์เซ็นต์การเกิดหัวบนใบ

2.1.2 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัวบนใบ

2.2 หัวใต้ดิน

2.2.1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัวใต้ดิน

2.2.2 น้ำหนักสดหัวใต้ดิน

2.2.3 น้ำหนักแห้งหัวใต้ดิน

2.2.4 เปอร์เซ็นต์มวลแห้งหัวใต้ดิน

V วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหัวบุกเนื้อทราย

นำหัวบุกที่เก็บเกี่ยวได้ไปล้างทำความสะอาดโดยใช้น้ำไหลผ่าน จากนั้นฝานเป็นชิ้นบางๆ ประมาณ 2-3 มิลลิเมตร ทำการชั่งน้ำหนักสด และนำไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนแห้งสนิท จึงชั่งน้ำหนักแห้ง จากนั้นนำแผ่นบุกที่อบแล้วไปบดให้ละเอียด แล้วทำการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีดังนี้

1. การวิเคราะห์หาความชื้น

1. นำขวดชั่งไปอบจนได้น้ำหนักที่แน่นอน แล้วนำมาชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งวิเคราะห์และบันทึกน้ำหนักไว้
2. ชั่งตัวอย่างบุก ประมาณ 1.0000 กรัม ชั่งน้ำหนักและบันทึกน้ำหนักไว้
3. นำขวดชั่งที่บรรจุตัวอย่างบุกไปอบในตู้อบด้วยลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ในระหว่างอบจะต้องเปิดฝาขวดชั่ง
4. นำขวดชั่งออกจากตู้อบแล้วนำไปใส่โถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็นปิดฝาขวดชั่ง แล้วนำไปชั่งและบันทึกน้ำหนักไว้

2. การวิเคราะห์หาโปรตีน

1. ชั่งตัวอย่างบุกประมาณ 1.000 กรัม บนกระดาษกรอง แล้วพับใส่ขวดเจดาลห์ เติมสารเร่งปฏิกิริยา (Selenium reagent mixture) ประมาณ 2-3 ช้อนพร้อมใส่ลูกแก้วลงไป 2 ลูก เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

2. ทำการย่อยตัวอย่างโดยนำขวดเจดาลห์ไปวางต่อกับชุดทำความร้อน เปิดเครื่องดูดอากาศ (hood) ให้ความร้อนน้อยๆ ก่อนจนลูกแก้วหยุดกระเด็นจึงให้ความร้อนเต็มที่ ระหว่างการย่อยให้หมุนขวดเจดาลห์เป็นครั้งคราว ทำการย่อยจนสารละลายมีสีเขียวใส
3. ปิดเครื่องทำความร้อนปล่อยให้ขวดเจดาลห์เย็น (หากบริเวณที่คอขวดเจอดาลห์มีจุดสีเกาะอยู่ให้ใช้น้ำกลั่นล้างลงไปแล้วย่อยต่อจนใส) ทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไป 50 มิลลิลิตร
4. เตรียมสารมาตรฐานกรดซัลฟิวริก 0.1 นอร์มอล ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติม Sceened methyl red indicator จำนวน 4 หยด นำมาต่อเข้ากับปลายเครื่องกลั่นโดยให้ปลายของท่อกลั่นจุ่มในสารละลาย เปิดน้ำผ่านเครื่องควบแน่นของเครื่องกลั่น
5. นำขวดเจอดาลห์ที่ย่อยมาเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 45 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร อย่างช้าๆ และไปต่อเข้ากับเครื่องกลั่นทันที เขย่าเป็นรูปวงกลมให้สารละลายเข้ากัน
6. เปิดเครื่องทำความร้อนของเครื่องกลั่น จนกระทั่งแอมโมเนียถูกกลั่นออกมาประมาณ 150 มิลลิลิตร อย่างช้าๆ ในขวดรูปชมพู่ จากนั้น เลื่อนขวดชมพู่ออกจากปลายเครื่องกลั่น โดยให้ปลายท่ออยู่เหนือสารละลาย ใช้น้ำกลั่นล้างปลายท่อ จากนั้นนำขวดรูปชมพู่ออกแล้วใส่ขวดรูปชมพู่ที่มีน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ลงไปแทน (เพื่อให้เครื่องกลั่นดูดทำความสะอาด ปิดเครื่องทำความร้อนเฉพาะเตา)
7. นำสารละลายที่ได้ในขวดรูปชมพู่ (สีไวน์แดง) มาไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล จนสารละลายเป็นสีเขียวใส

3. การวิเคราะห์หาไขมัน

1. นำขวดก้นแบนไปอบให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง นำออกมาทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักและบันทึกไว้ (เขียนหมายเลขกำกับ)
2. ชั่งน้ำหนักสารตัวอย่างประมาณ 1.0000 กรัม บนกระดาษกรองและบันทึกไว้ ห่อตัวอย่างใส่ลงใน Thimble แล้วนำไปใส่ใน Soxhlet ต่อ Soxhlet เข้ากับเครื่องควบแน่น
3. เติมตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) หรือเฮกเซน (hexane) ลงในขวดก้นแบนประมาณ 2 ใน 3 ของขวด นำมาต่อเข้ากับ Soxhlet และเครื่องให้ความร้อน
4. เปิดระบบน้ำให้ผ่านเครื่องควบแน่น และเปิดเครื่องให้ความร้อน ควบคุมอุณหภูมิประมาณ 20-30 องศาเซลเซียสจากนั้นทำการสกัดเป็นเวลา 8 ชั่วโมง

5. ทำการถ่ายสารละลายออกจาก Soxhlet โดยให้เหลือสารละลายที่อยู่ในขวดก้นแบนน้อยที่สุด และทำการถอด Soxhlet ออกจากขวดก้นแบนและเครื่องควบแน่น วางขวดก้นแบนไว้บนแผ่นความร้อนจนเกือบแห้งสนิท
6. นำขวดก้นแบนมาอบให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง นำออกมาทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักและบันทึกไว้

4. การวิเคราะห์หาเยื่อใย

1. นำถ้วยแก้วกรอง (เบอร์ 4) ไปอบให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง นำออกมาทิ้งไว้ให้เย็นในโถอบแห้ง
2. ชั่งน้ำหนักถ้วยแก้วกรองจดบันทึกน้ำหนักไว้ นำตัวอย่างบุกที่ทำการสกัดไขมันออกแล้วประมาณ 1.0000 กรัม ใส่ลงในถ้วยแก้วกรองชั่งน้ำหนักจดบันทึกไว้
3. นำถ้วยแก้วกรองไปต่อเข้ากับเครื่องให้ความร้อนและเครื่องควบแน่นจากนั้นเติมกรดซัลฟิวริก เข้มข้น 1.25 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ลงในท่อคอนเดนเซอร์ เปิดน้ำให้ไหลผ่านเครื่องควบแน่น เปิดเครื่องทำการต้มตัวอย่างบุกด้วยกรดซัลฟิวริกเป็นเวลานาน 30 นาที (โดยจับเวลาตอนที่สารละลายเดือด) เติมแอนติโฟม 3-5 หยด (เพื่อป้องกันการเกิดฟอง)
4. กรองเอาสารละลายออกโดยกดที่ปุ่มแวคคัม ด้านข้างพร้อมกับปรับปุ่มไปที่แวคคัมตรงด้านล่างของถ้วยแก้วกรองจนสารละลายแห้งสนิท จากนั้นใช้น้ำร้อนที่เตรียมไว้ล้างลงไป 3 ครั้งๆ ละ 10 มิลลิลิตร (จนหมดกรด) จากนั้นปิดแวคคัมด้านข้างพร้อมปรับปุ่มแวคคัมไปที่ตำแหน่งปิด (close)
5. เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1.25 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 150 มิลลิลิตร ลงในท่อคอนเดนเซอร์ ทำการต้มสารตัวอย่างด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ เป็นเวลานาน 30 นาที (โดยจับเวลาตอนสารละลายเดือด) เติมแอนติโฟม 3-5 หยด (เพื่อป้องกันการเกิดฟอง)
6. กรองเอาสารละลายออกโดยกดปุ่มแวคคัม ด้านข้างพร้อมกับปรับปุ่มไปที่แวคคัมตรงด้านล่างถ้วยแก้วกรองจนสารละลายแห้งสนิท จากนั้นใช้น้ำร้อนที่เตรียมไว้ล้างลงไปประมาณ 3 ครั้ง ครั้งละ 10 มิลลิลิตร เพื่อไล่น้ำออกไป จากนั้นปิดที่ปุ่มแวคคัมด้านข้างพร้อมปรับปุ่มแวคคัมไปที่ตำแหน่งปิด (close)
7. นำถ้วยแก้วกรองออกจากเครื่องกรองโดยปรับคันโยก ระวังมิให้ถ้วยแก้วกรองหล่น โดยการใช้คีมจับออกมานำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง นำออกมาทิ้งไว้ให้เย็นในโถอบแห้งชั่งน้ำหนักและจดบันทึกไว้

8. จากนั้นนำไปเผาต่อที่เตาเผาอุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง นำออกมาทิ้งไว้ให้เย็นในกระเบื้องเคลือบก่อนแล้วเก็บไว้ในโถอบแห้งจนเย็น ชั่งน้ำหนัก และบันทึกไว้

5. การวิเคราะห์หาเถ้า

1. นำถ้วยกระเบื้องมาเขียนหมายเลขกำกับตามลำดับแล้วนำไปเผาในเตาเผาอุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
2. จากนั้นนำถ้วยกระเบื้องออกจากเตาเผา ตั้งทิ้งไว้บนแผ่นกระเบื้องเคลือบให้เย็นสักครู่แล้วนำไปตั้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก และบันทึกผลไว้
3. ชั่งตัวอย่างบุกที่สกัดไขมันออกแล้วใส่ในถ้วยกระเบื้องประมาณ 1.0000 กรัม บันทึกน้ำหนักไว้
4. นำถ้วยกระเบื้องพร้อมตัวอย่างไปเผาบนแผ่นความร้อนในตู้ควันจนกระทั่งหมดควัน
5. นำถ้วยกระเบื้องพร้อมตัวอย่างไปเผาต่อในเตาเผาที่มีอุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จนเถ้ามีสีขาว นำถ้วยกระเบื้องออกมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นสักครู่บนแผ่นกระเบื้องเคลือบแล้วนำไปตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถอบแห้ง เสร็จแล้วนำไปบันทึกน้ำหนักไว้

6. การวิเคราะห์เอ็นเอฟอี (Nitrogen Free Extract, NFE)

NFE เป็น คาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ง่ายเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งได้แก่ แป้ง และน้ำตาล แต่อาจมีส่วนของเฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ปนอยู่บ้าง ค่านี้ไม่ได้ทำการวิเคราะห์โดยตรง แต่ได้จากการคำนวณโดยนำค่าทั้งหมดมาหักออกจากค่าของวัตถุแห้ง ดังสูตร

$$\%\,NFE = \%\text{วัตถุแห้ง} - \%\text{เถ้า} - \%\text{โปรตีน} - \%\text{ไขมัน} - \%\text{เยื่อใย}$$

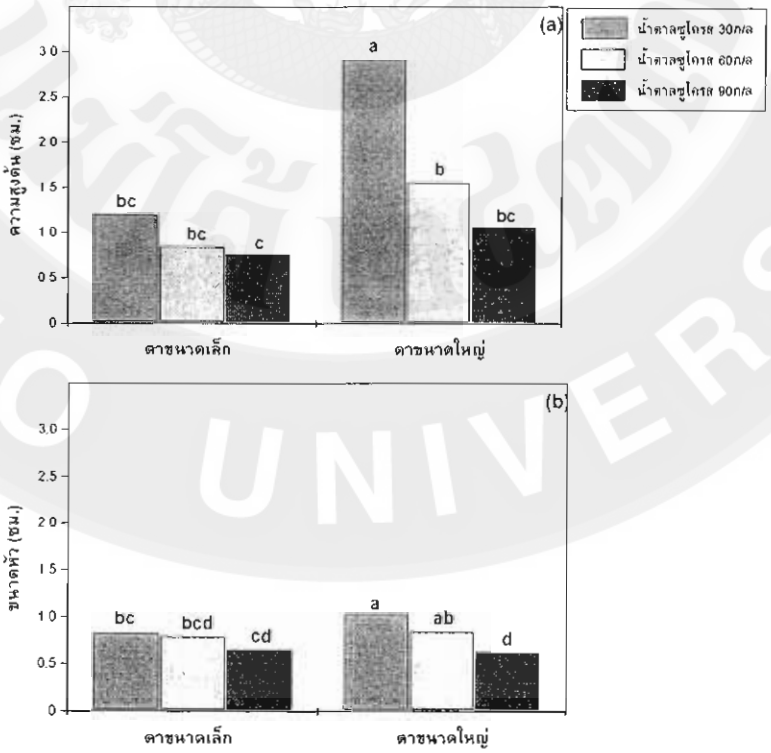
สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ผลการวิจัย

I ปัจจัยที่เหมาะสมในการผลิตหัวบุกเนื้อทรายขนาดจิ๋วในอาหารแข็งสภาพปลอดเชื้อ

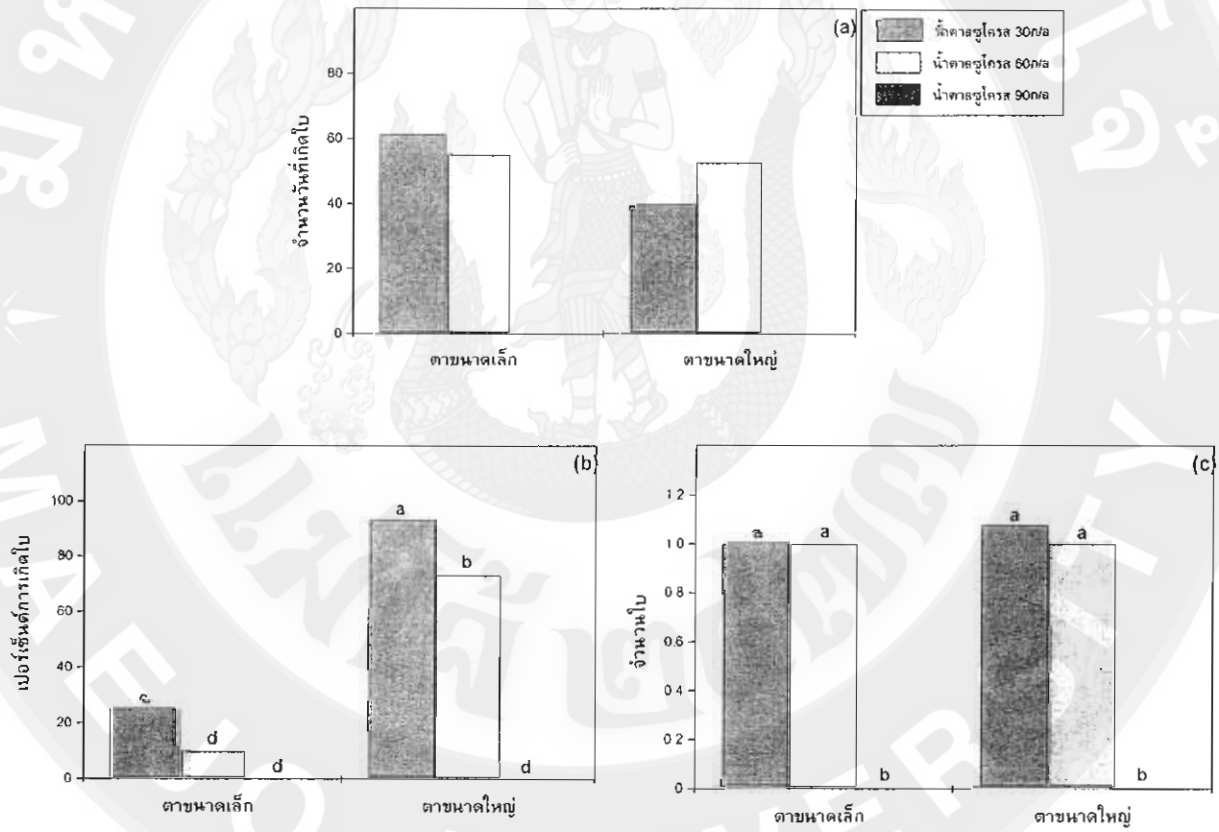
1. ผลของขนาดชิ้นส่วนตั้งต้นร่วมกับของน้ำตาลซูโครสที่มีต่อขนาดของหัวพันธุ์บุกเนื้อทราย

จากการนำชิ้นส่วนของตาบุกเนื้อทรายที่มีความสูงของยอด 2 ขนาด คือ ขนาดเล็ก 0.4 เซนติเมตร และขนาดใหญ่ 0.8 เซนติเมตร มาเป็นชิ้นส่วนตั้งต้นเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาล 3 ระดับ คือ 30, 60 และ 90 กรัมต่อลิตร เป็นเวลานาน 12 สัปดาห์ พบว่า ขนาดของชิ้นส่วนตาขนาดใหญ่ 0.8 เซนติเมตร มีความสูงเพิ่มขึ้นมากกว่าตาขนาดเล็ก 0.4 เซนติเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส 30 และ 60 กรัมต่อลิตร โดยตาขนาดใหญ่ 0.8 เซนติเมตร มีความสูงเพิ่มขึ้น 2.12 และ 0.76 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ตาขนาดเล็กมีความสูงเพิ่มขึ้น 0.80 และ 0.44 เซนติเมตร ตามลำดับ และขนาดของชิ้นส่วนขนาดใหญ่ร่วมกับน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ยังทำให้ขนาดความกว้างหัวบุกที่ได้มีขนาดใหญ่ที่สุด คือ 1.03 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างจากการใช้ชิ้นส่วนตาขนาดเล็กเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร เท่ากัน ที่มีขนาดความกว้างหัว 0.82 เซนติเมตร เท่านั้น และเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเป็น 60 และ 90 กรัมต่อลิตร ทั้งความสูงต้นและขนาดของหัวจะลดลง (ภาพที่ 5a และ 5b)



ภาพที่ 5 ผลของขนาดชิ้นส่วนตั้งต้นต่อ ความสูงต้น (a) ขนาดหัว (b) ของบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์

นอกจากนี้ชิ้นส่วนตาขนาดใหญ่ยังมีผลทำให้เกิดใบได้เร็วกว่า และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดใบมากกว่าชิ้นส่วนตาขนาดเล็ก โดยเฉพาะเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ซึ่งใช้เวลา 39.62 วัน และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดใบถึง 93.33% ซึ่งแตกต่างจากตาขนาดเล็กที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดใบเพียง 25.0% เท่านั้น เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีระดับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตรเท่ากัน แต่อย่างไรก็ตามจำนวนใบต่อต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงตาขนาดใหญ่และตาขนาดเล็กมีจำนวนใกล้เคียงกันเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาล 30 และ 60 กรัมต่อลิตร คือ 1.0-1.07 ใบต่อต้น ในขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเป็น 90 กรัมต่อลิตร ไม่พบการเกิดของใบแต่อย่างใด (ภาพที่ 6a, 6b และ 6c)

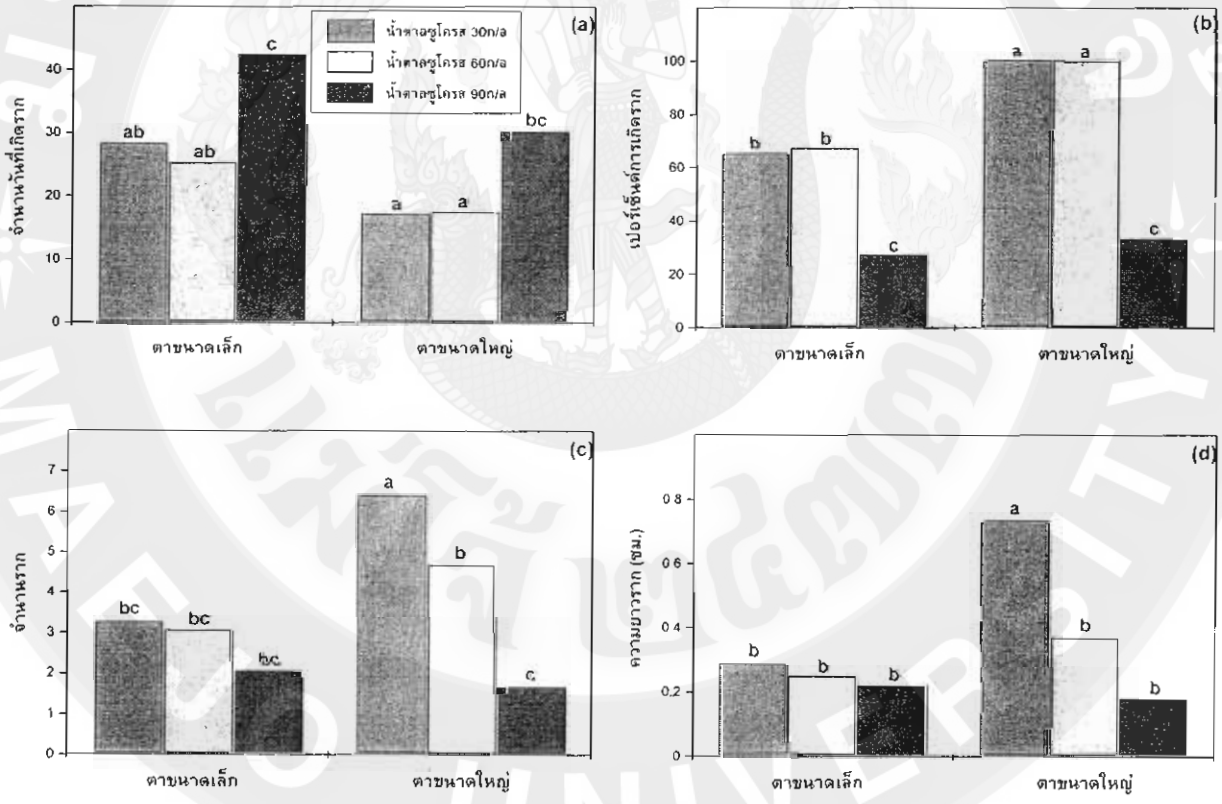


ภาพที่ 6 ผลของขนาดชิ้นส่วนตั้งต้นต่อ จำนวนวันที่เกิดใบ (a) เปอร์เซ็นต์การเกิดใบ (b) และจำนวนใบ (c) ของบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์

ในการเกิดรากของบุกเนื้อทรายนั้น พบว่า ชิ้นส่วนตาขนาดใหญ่เกิดรากได้เร็วกว่าและมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากกว่าชิ้นส่วนตาขนาดเล็ก โดยเฉพาะที่ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสต่ำ 30 และ 60 กรัมต่อลิตร ที่ใช้เวลาในการเกิดราก 17.27-17.53 วัน และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากถึง

100% ในขณะที่ตาขนาดเล็กใช้เวลาในการเกิดราก 25.27-28.32 วัน และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดราก 65.0-67.5% และเมื่อน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นสูงขึ้น 90 กรัมต่อลิตร เวลาที่ใช้ในการเกิดราก และเปอร์เซ็นต์การเกิดรากจะลดลงซึ่งเห็นความแตกต่างอย่างชัดเจน (ภาพที่ 7a และ 7b)

นอกจากนี้ตาขนาดใหญ่ยังมีผลทำให้จำนวนรากและความยาวรากมากกว่าตาขนาดเล็ก เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเท่ากัน โดยน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่ำ 30 กรัมต่อลิตร มีจำนวนรากเฉลี่ย 6.4 รากต่อชิ้นส่วน และมีความยาวรากเฉลี่ย 0.73 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างจากทุกกรรมวิธีที่มีจำนวนรากเฉลี่ย 1.67-4.07 รากต่อชิ้นส่วน และมีความยาวรากเฉลี่ย 0.18-0.37 เซนติเมตร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส โดยเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสสูงขึ้นมีผลทำให้จำนวนราก และความยาวรากลดลง (ภาพที่ 7c และ 7d)

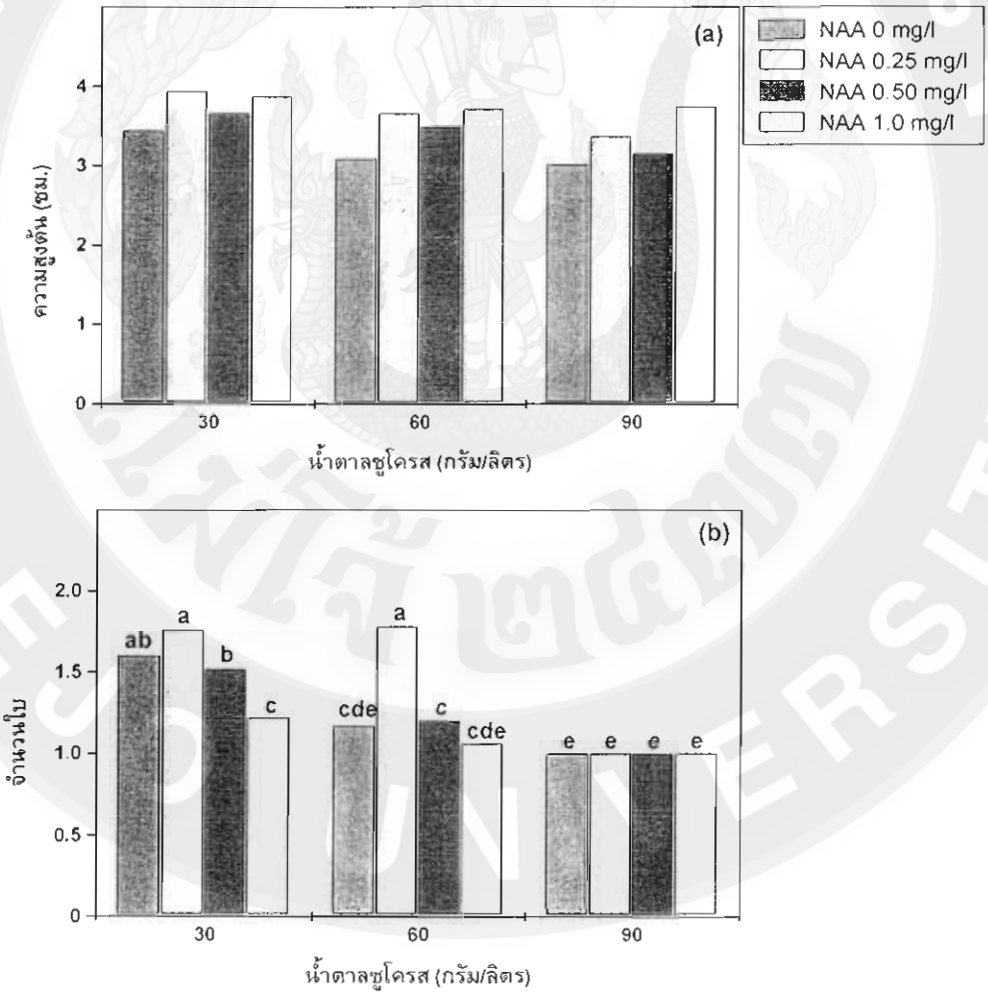


ภาพที่ 7 ผลของขนาดชิ้นส่วนตั้งต้นต่อ จำนวนวันที่เกิดราก (a) เปอร์เซ็นต์การเกิดราก (b) จำนวนราก (c) และความยาวราก (d) ของบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์

2. ผลของน้ำตาลซูโครสร่วมกับ NAA ที่มีต่อขนาดของหัวพันธุ์บุกเนื้อทราย

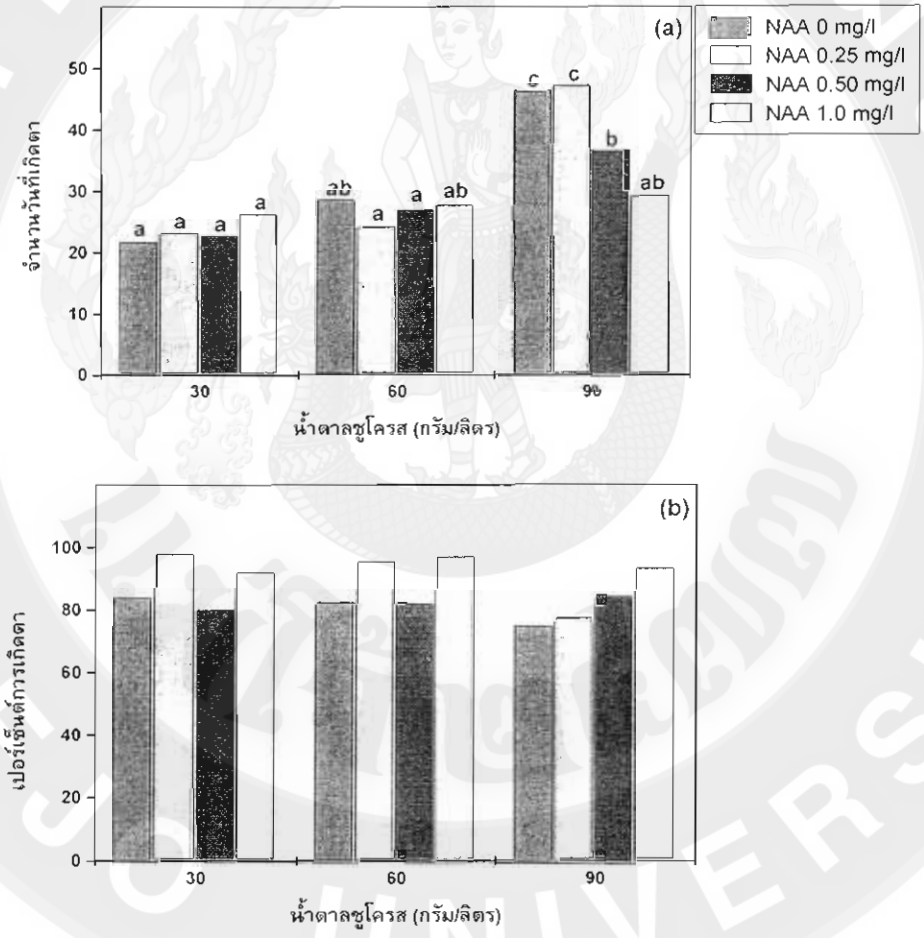
เมื่อนำชิ้นส่วนตาของบุกเนื้อทรายที่มีความสูงประมาณ 0.8 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 30, 60 และ 90 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0, 0.25,

0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา นาน 12 สัปดาห์ พบว่า ทุกกรรมวิธีมีความสูงต้นไม่แตกต่างกัน โดยการใช้น้ำตาลความเข้มข้นต่ำ 30 กรัมต่อลิตร มีความสูงมากกว่าการใช้น้ำตาลความเข้มข้นสูง 60 และ 90 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้ร่วมกับ NAA ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน โดยความสูงต้นจะอยู่ในช่วง 3.02-3.94 เซนติเมตร ซึ่งการไม่ใช้ NAA ต้นจะมีความสูงน้อยที่สุด (ภาพที่ 8a) แต่ผลของน้ำตาลซูโครสร่วมกับ NAA มีผลต่อจำนวนใบและจำนวนวันที่เกิดตาของบุกเนื้อทราย โดยพบว่าการใช้น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียวโดยไม่มี NAA หรือมี NAA ความเข้มข้นต่ำ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วมีน้ำตาลซูโครสเพิ่มขึ้นเป็น 60 กรัมต่อลิตร มีจำนวนใบมากที่สุด คือ 1.60-1.78 ใบต่อต้น ในขณะที่การใช้น้ำตาลซูโครสความเข้มข้นสูง 90 กรัมต่อลิตร มีจำนวนใบเฉลี่ยเพียง 1.0 ใบต่อต้นเท่านั้น (ภาพที่ 8b)



ภาพที่ 8 ผลของน้ำตาลซูโครสและ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อความสูงต้น (a) และจำนวนใบ (b) ของบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์

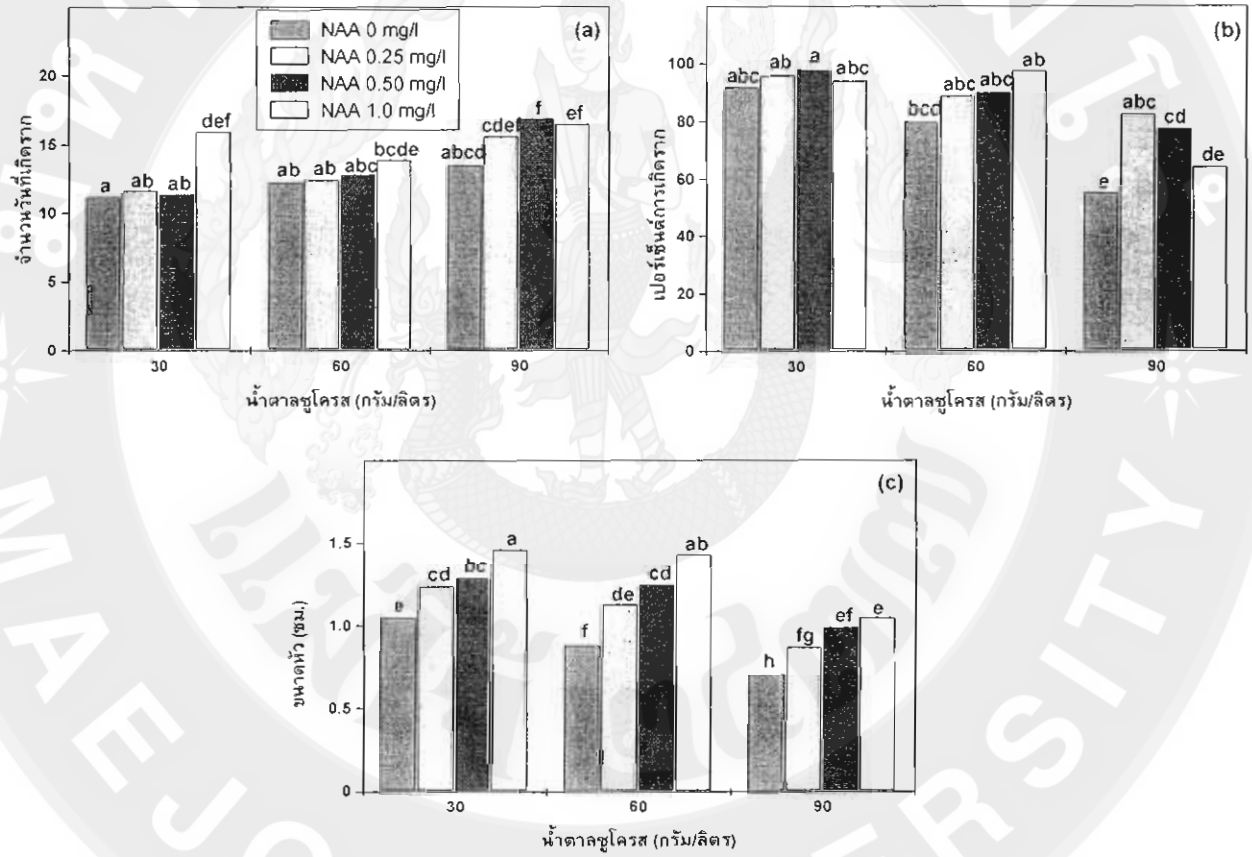
นอกจากนี้แล้วการใช้น้ำตาลความเข้มข้นต่ำ 30 และ 60 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ทุกความเข้มข้น ใช้เวลาในการเกิดตาได้เร็วกว่าการใช้น้ำตาล 90 กรัมต่อลิตร คือ 21.86-28.79 วัน โดยการใช้น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียวโดยไม่มี NAA สามารถเกิดตาได้เร็วที่สุด (ภาพที่ 9a) แต่อย่างไรก็ตาม พบว่า ความเข้มข้นของน้ำตาลร่วมกับ NAA กลับไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดตาของบุก โดยทุกกรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์การเกิดตาอยู่ในช่วง 75.56-98.0% โดยน้ำตาลความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดตาได้มากที่สุด (ภาพที่ 9b)



ภาพที่ 9 ผลของน้ำตาลซูโครสและ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อจำนวนวันที่เกิดตา (a) และเปอร์เซ็นต์การเกิดตา (b) ของบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์

ผลของน้ำตาลร่วมกับ NAA ต่อการเกิดรากและการพัฒนาหัวของบุกเนื้อทราย พบว่า น้ำตาลความเข้มข้นต่ำ 30 และ 60 กรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว โดยไม่มี NAA หรือมี NAA ความเข้มข้น 0.25-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้เวลาในการเกิดรากเร็วที่สุดไม่แตกต่างกัน คือ 11.18-12.85 วัน (ภาพที่ 10a) โดยน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มี

เปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากที่สุด คือ 98.0% ซึ่งไม่แตกต่างจากการใช้ NAA ที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 30 และ 60 กรัมต่อลิตร (ภาพที่ 10b) ส่วนขนาดของหัวนั้นพบว่า บุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาล 30 และ 60 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้นสูง 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ขนาดความกว้างของหัวมากที่สุด คือ 1.46 และ 1.43 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากทุกกรรมวิธี ส่วนการไม่ใช้ NAA ในอาหารเลยนั้นให้ขนาดของหัวเล็กที่สุด คือ 1.05, 0.88 และ 0.71 เซนติเมตร เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 30, 60 และ 90 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ภาพที่ 10c)

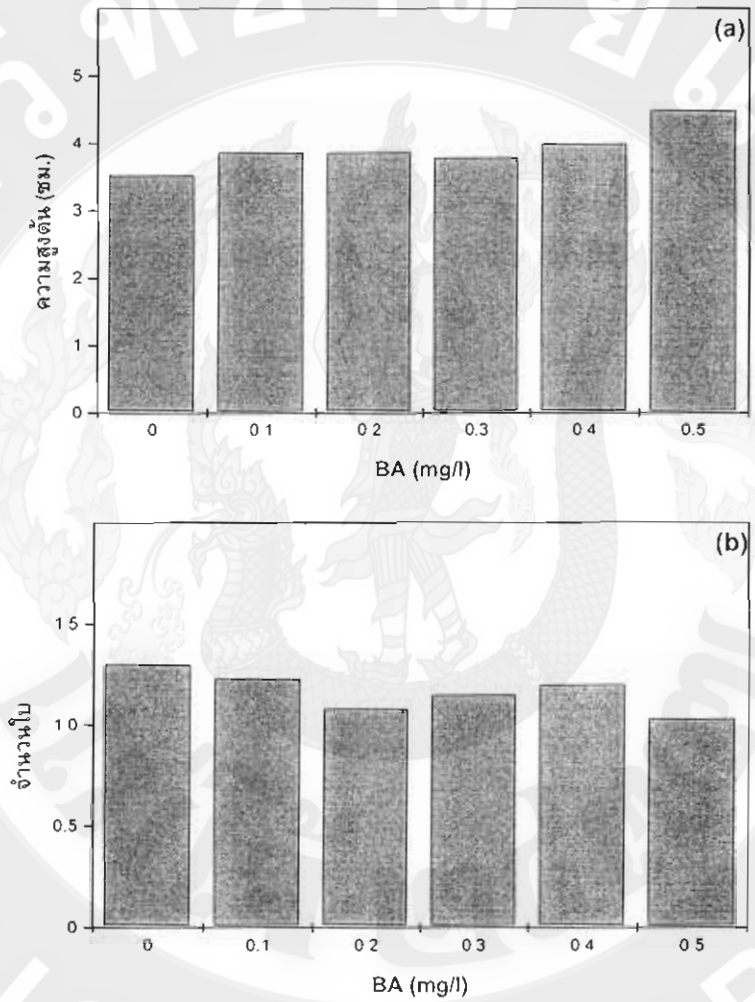


ภาพที่ 10 ผลของน้ำตาลซูโครสและ NAA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อจำนวนวันที่เกิดราก (a) เปอร์เซ็นต์การเกิดราก (b) และขนาดหัว (c) ของบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์

3. ผลของ BA ที่มีต่อขนาดของหัวพันธุ์บุกเนื้อทราย

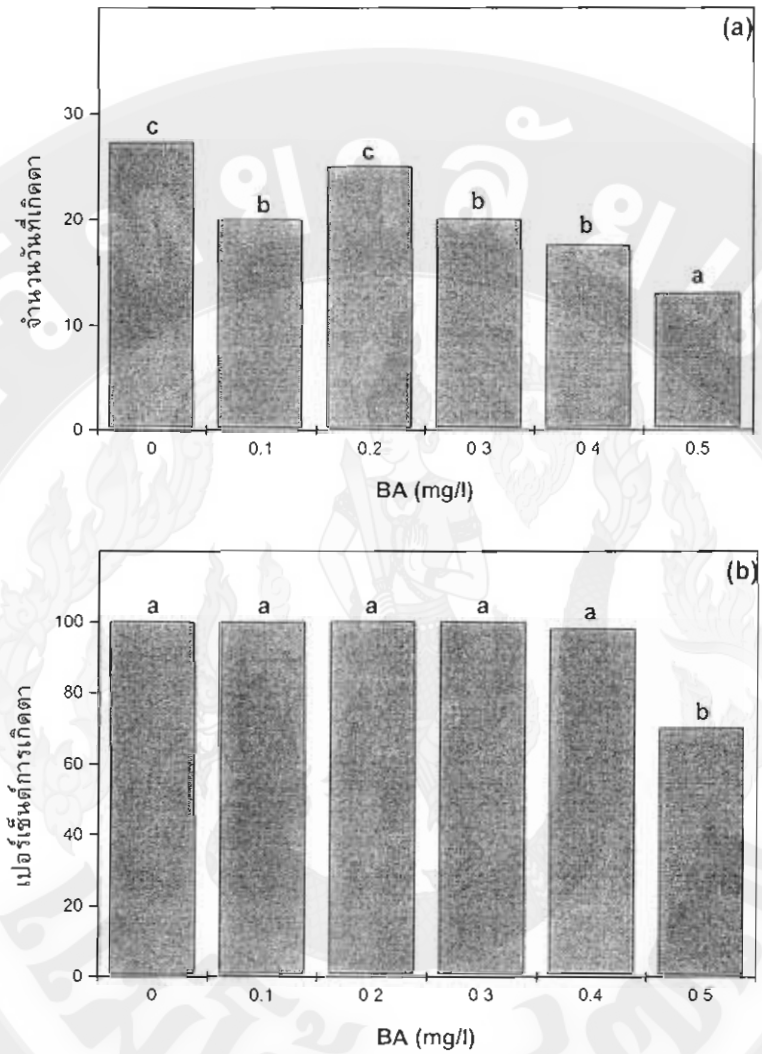
เมื่อนำชิ้นส่วนของตาบุกเนื้อทรายที่มีความสูงประมาณ 0.8 เซนติเมตร ไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BA ความเข้มข้น 0-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลานาน 12 สัปดาห์ พบว่า ความสูงต้นและจำนวนใบไม่มีความแตกต่างกัน (ภาพที่ 11a และ

11b) โดยทุกกรรมวิธีมีความสูงต้นอยู่ในช่วง 3.52-4.48 เซนติเมตร ซึ่งการใช้ BA ความเข้มข้นสูง 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสูงต้นมากที่สุด ในขณะที่การไม่ใช้ BA นั้นต้นจะเตี้ยที่สุด และมีจำนวนใบมากที่สุด คือ 1.30 ใบต่อต้น ส่วนการใช้ BA มีจำนวนใบเฉลี่ย 1.03-1.13 ใบต่อต้นเท่านั้น



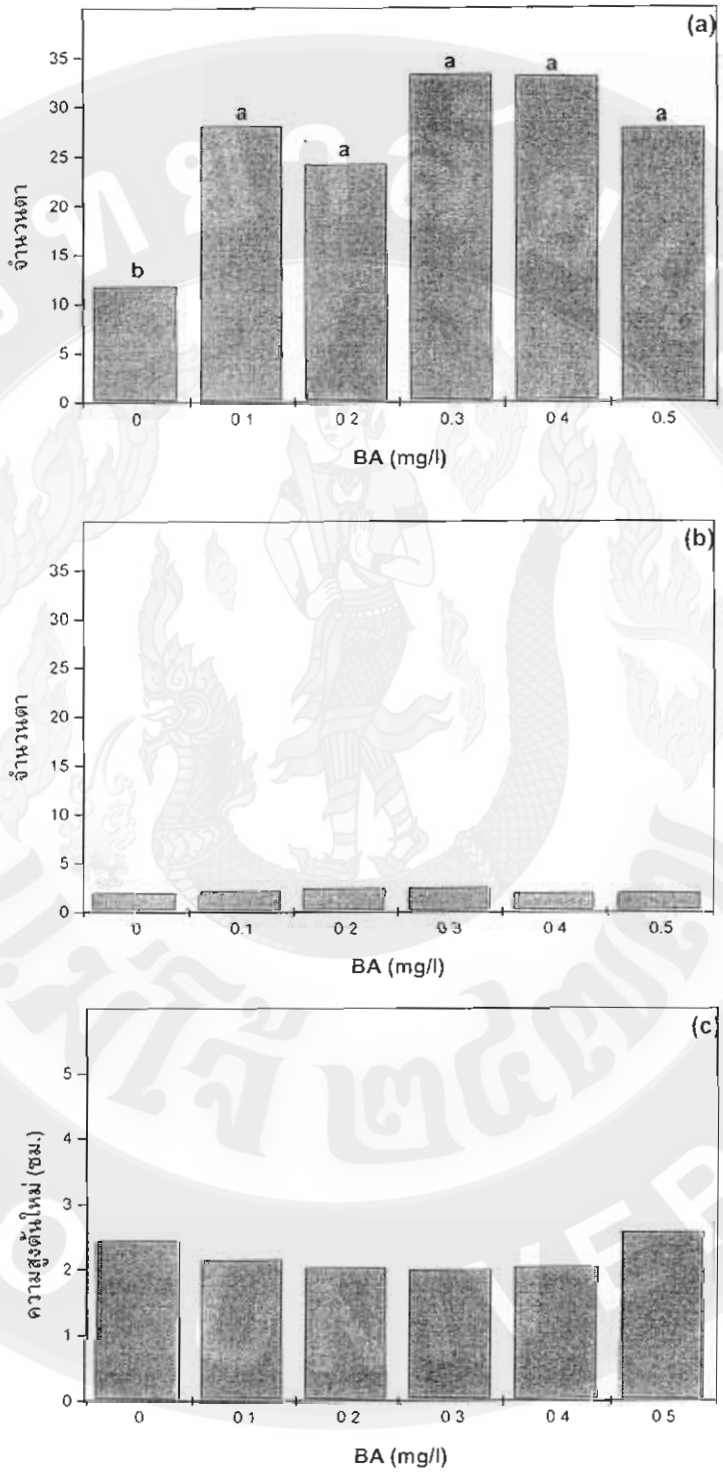
ภาพที่ 11 ผลของ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อความสูงต้น (a) และจำนวนใบ (b) ของบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์

ต้นบุกเนื้อทรายที่เลี้ยงในอาหารที่มี BA ความเข้มข้นสูง 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดตาได้เร็วที่สุด คือ 13.03 วัน และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดตาน้อยที่สุด คือ 70% เท่านั้น ซึ่งแตกต่างจากการใช้ BA ความเข้มข้น 0.1-0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และการไม่ใช้ BA (ภาพที่ 12a และ 12b) ที่เกิดตาได้ช้ากว่า คือ 17.57-25.02 วัน และ 27.31 วัน ตามลำดับ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดตามากกว่าต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BA ความเข้มข้นสูง คือ 98.0-100.0 เปอร์เซ็นต์



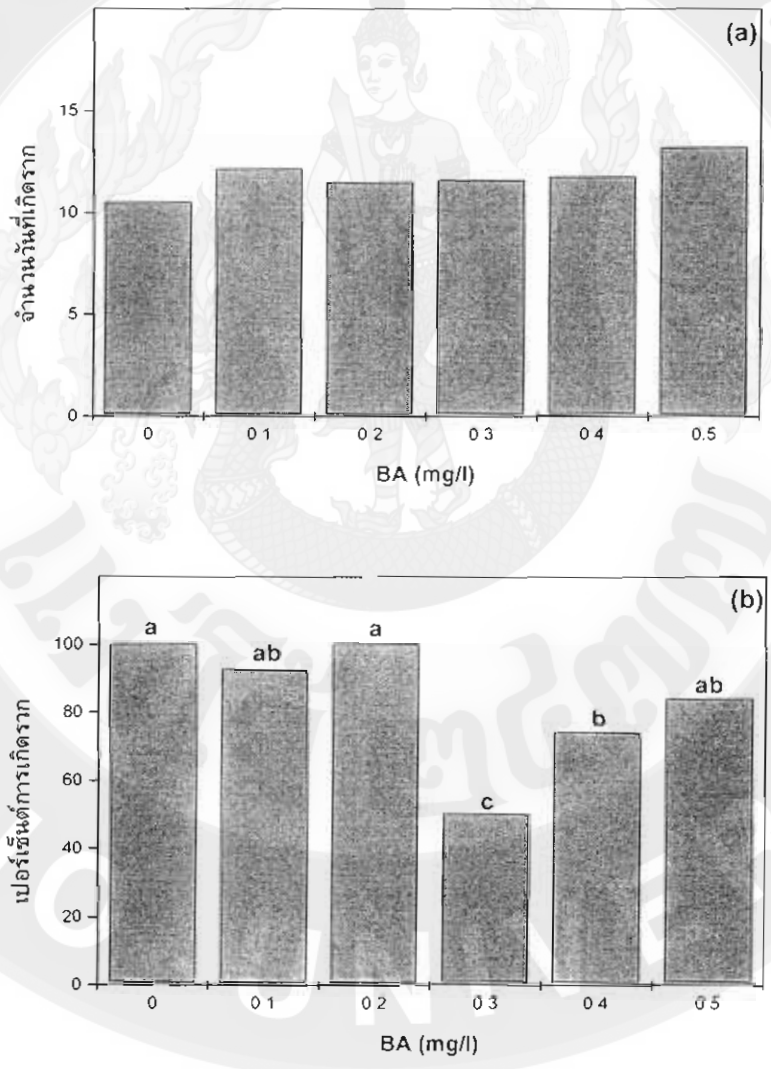
ภาพที่ 12 ผลของ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อจำนวนวันที่เกิดตา (a) และเปอร์เซ็นต์การเกิดตา (b) ของบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์

นอกจากนี้แล้ว BA ยังมีผลต่อจำนวนตาต่อต้นของบุกด้วย กล่าวคือ ต้นบุกที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มี BA มีจำนวนตาที่เกิดมากกว่าและแตกต่างจากต้นที่ไม่ได้เพาะเลี้ยงด้วย BA ซึ่งมีจำนวนตา 24.25-33.40 ตาต่อต้น ในขณะที่ต้นที่ไม่มี BA มีจำนวนตาที่เกิดเพียง 11.81 ตาต่อต้น เท่านั้น (ภาพที่ 13a) แต่อย่างไรก็ตามกลับพบว่า BA ไม่มีผลต่อจำนวนตาที่พัฒนาไปเป็นต้นของบุกแต่อย่างใด โดยต้นที่ใช้ BA และไม่ใช้ BA มีจำนวนตาที่พัฒนาเป็นต้นอยู่ในช่วง 1.97-2.53 ต้นต่อชิ้นส่วน เท่านั้น และมีความสูงของต้นใหม่ไม่แตกต่างกัน คือ 2.00-2.58 เซนติเมตร (ภาพที่ 13b และ 13c)



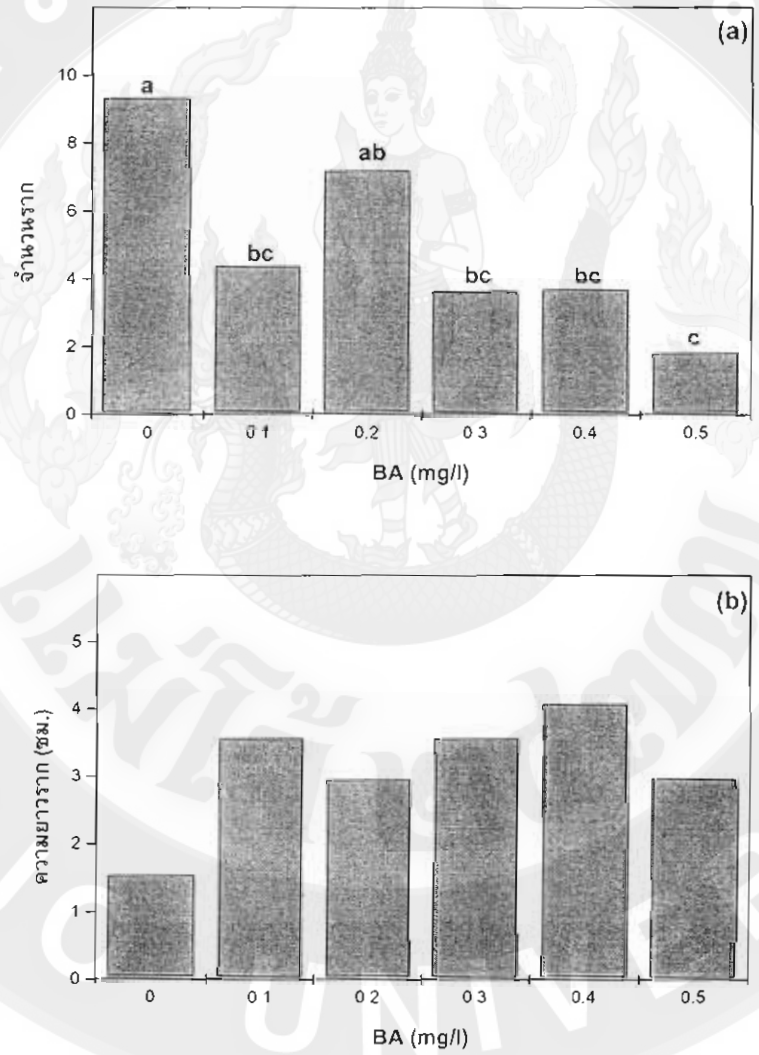
ภาพที่ 13 ผลของ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อจำนวนตาที่พัฒนาทั้งหมด (a) จำนวนตาที่พัฒนาเป็นต้น (b) และความสูงต้นใหม่ (c) ของบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์

ส่วนการเกิดรากของบุกเนื้อทราย พบว่า การใช้ BA และการไม่ใช้ BA ในอาหาร ใช้เวลาในการเกิดรากไม่แตกต่างกัน คือ 10.51-13.21 วัน โดยการไม่ใช้ BA ใช้เวลาในการออกรากน้อยที่สุด และการใช้ BA ความเข้มข้นสูง 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ใช้เวลาในการออกรากนานที่สุด (ภาพที่ 14a) การใช้ BA ความเข้มข้นต่ำ 0.1-0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และการไม่ใช้ BA มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากที่สุดถึง 82.5-100% ซึ่งมากกว่าการใช้ BA ความเข้มข้นสูง 0.3-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากเพียง 50.0-84.0% เท่านั้น (ภาพที่ 14b)



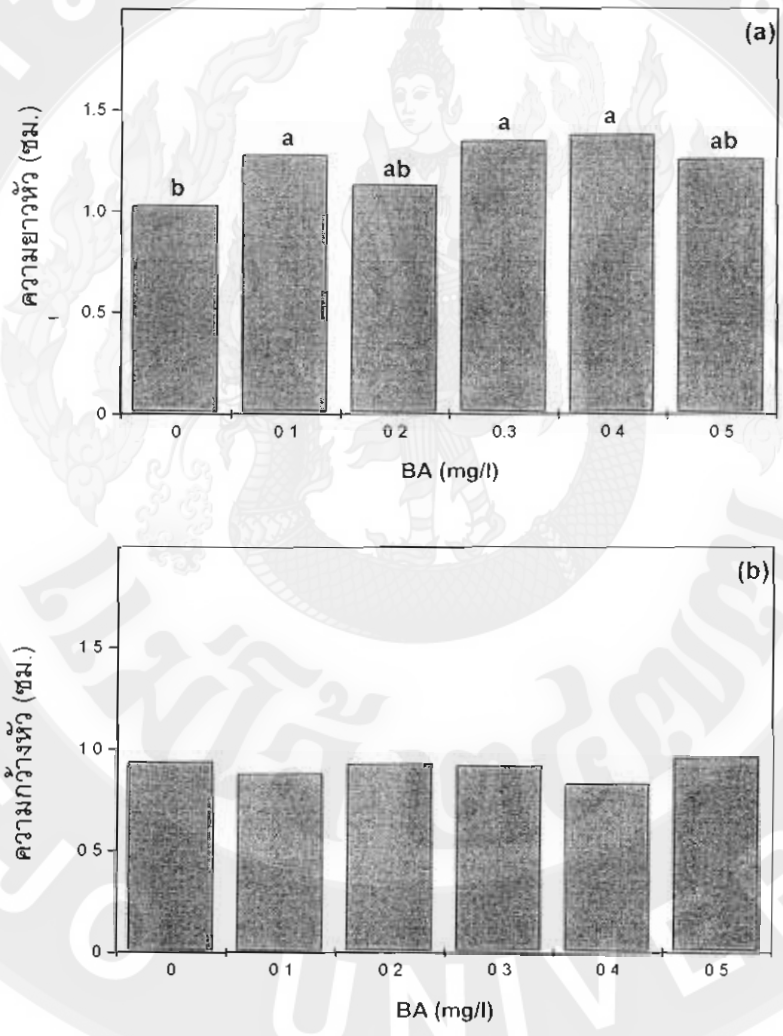
ภาพที่ 14 ผลของ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อจำนวนวันที่เกิดราก (a) และเปอร์เซ็นต์การเกิดราก (b) ของบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์

นอกจากนี้การใช้ BA ยังส่งผลต่อจำนวนรากที่เกิดต่อต้นของบุกเนื้อทราย โดยพบว่า การใช้ BA ทำให้จำนวนรากที่เกิดต่อต้นของบุกเนื้อทรายลดลง โดยเฉพาะที่ BA ความเข้มข้นสูง 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีจำนวนรากที่เกิดเพียง 1.8 รากต่อต้น เท่านั้น ซึ่งแตกต่างจากการไม่ใช้ BA ที่มีจำนวนรากมากถึง 9.32 รากต่อต้น แต่อย่างไรก็ตามกลับไม่พบความแตกต่างของความยาวรากแต่อย่างใด (ภาพที่ 15a และ 15b)



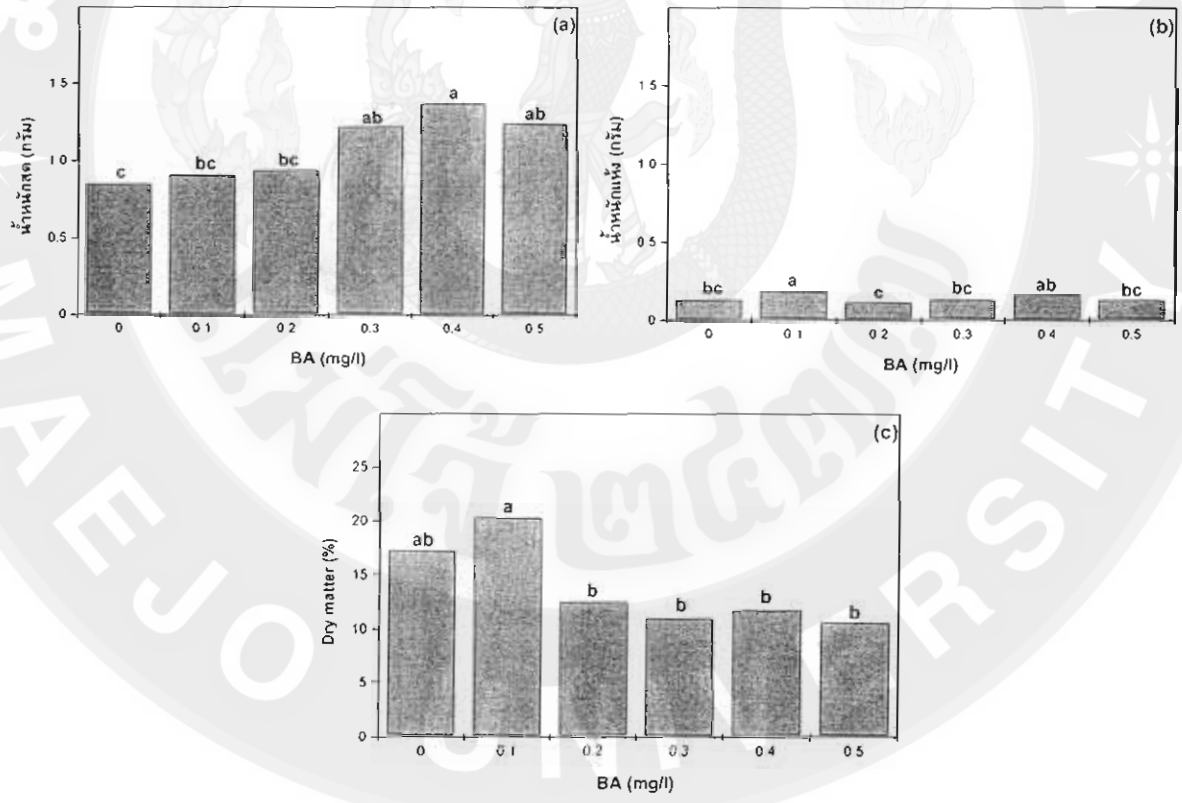
ภาพที่ 15 ผลของ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อจำนวนราก (a) และความยาวราก (b) ของบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์

ผลของการใช้ BA ต่อการพัฒนาหัวของบุกเนื้อทรายพบว่า การใช้ BA มีผลทำให้ขนาดของหัวบุกเนื้อทรายที่ได้มีขนาดเพิ่มขึ้นกว่าการไม่ใช้ BA โดย BA ความเข้มข้น 0.3-0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร มีขนาดความยาวของหัวมากที่สุด คือ 1.35-1.38 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างจากการไม่ใช้ BA ที่มีความยาวของหัวเพียง 1.03 เซนติเมตร เท่านั้น ส่วนความกว้างของหัวนั้นการใช้ BA และไม่ใช้ BA ไม่มีความแตกต่างกัน คือ มีความกว้างของหัว เท่ากับ 0.83-0.96 ซม (ภาพที่ 16a และ 16b)



ภาพที่ 16 ผลของ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อความยาวหัว (a) และความกว้างหัว (b) ของบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์

เมื่อนำหัวที่ได้มาชั่งน้ำหนักสดโดยตัดส่วนของรากและใบออก พบว่า การใช้ BA ความเข้มข้นสูง 0.3-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสดของหัวมากที่สุด โดยเฉพาะการใช้ BA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักสดมากถึง 1.37 กรัม ซึ่งแตกต่างจากการไม่ใช้ BA ที่มีน้ำหนักสดของหัวน้อยที่สุด คือ 0.85 กรัม (ภาพที่ 17a) จากนั้นนำหัวไปอบเพื่อหาน้ำหนักแห้ง พบว่า การใช้ BA ความเข้มข้นต่ำ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักแห้งมากที่สุด คือ 0.18 กรัม ซึ่งไม่แตกต่างจาก BA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีน้ำหนักแห้ง 0.16 กรัม แต่แตกต่างจากการไม่ใช้ BA ที่มีน้ำหนักแห้ง 0.13 กรัม (ภาพที่ 17b) และถึงแม้ว่าการใช้ BA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้น้ำหนักสดหัวมากที่สุด แต่กลับพบว่า มีเปอร์เซ็นต์มวลแห้ง (dry matter) เพียง 11.72% น้อยกว่าการใช้ BA ความเข้มข้นต่ำ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีเปอร์เซ็นต์มวลแห้งสูงที่สุด รองลงมา คือ การไม่ใช้ BA โดยมีเปอร์เซ็นต์มวลแห้ง เท่ากับ 20.33 และ 17.22% ตามลำดับ (ภาพที่ 17c)



ภาพที่ 17 ผลของ BA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อน้ำหนักสด (a) น้ำหนักแห้ง (b) และเปอร์เซ็นต์มวลแห้ง (c) ของบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงนาน 12 สัปดาห์

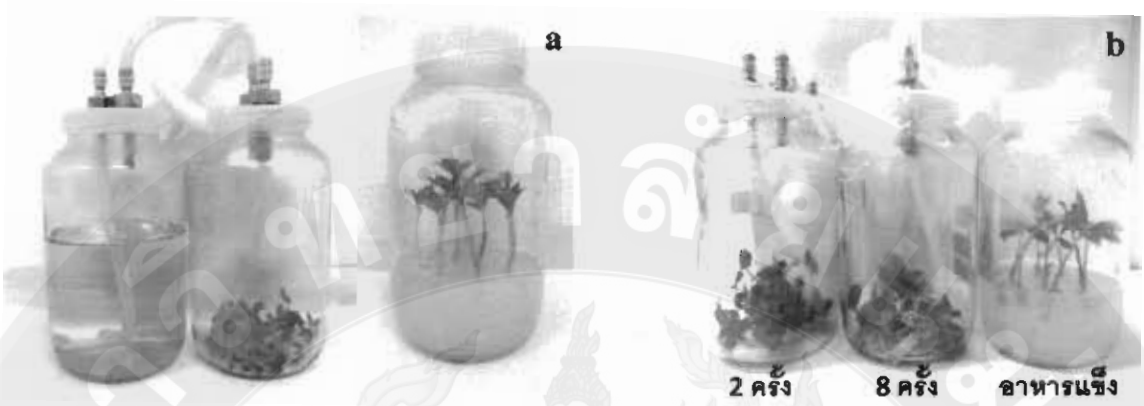
II การผลิตหัวบุกเนื้อทรายขนาดจิ๋วด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

1. ลักษณะต้นบุกหลังการเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

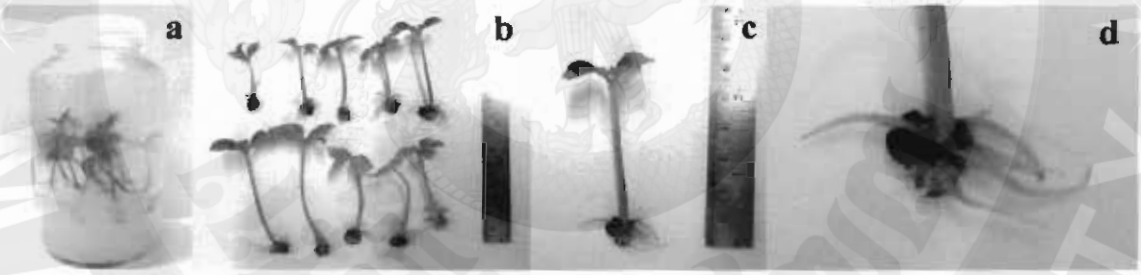
จากการเพาะเลี้ยงบุกเนื้อทรายในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารแข็ง และใน TIB ที่มีการให้อาหารครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (ภาพที่ 19) พบว่า ต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งมีลักษณะของลำต้นยืดยาว ใบเขียว โดยใบที่เกิดขึ้นจะมีรูปแบบของใบที่ปกติ คือ เป็นกลุ่มใบยอดเดี่ยวแยกออกเป็นสามทาง แต่ละก้านใบจะมีใบแยกออกอีก และมีการเกิดหัวที่ใหญ่ เกิดการแตกตาขนาดเล็กไม่มาก อีกทั้งไม่พบการงอกของยอดใหม่ และต้นออกรากทั้งหมด แต่มีรากจำนวนไม่มาก (ภาพที่ 20) ส่วนต้นที่เพาะเลี้ยงใน TIB ทั้งที่มีการให้อาหาร 2 และ 8 ครั้งต่อวัน พบว่า ต้นที่ได้จะมีการงอกของยอดใหม่ทั้งหมด (ภาพที่ 21) ซึ่งจะต่างจากต้นในอาหารแข็งที่ไม่พบยอดใหม่งอก นอกจากนี้ยังพบต้นจาก TIB บางส่วนเป็นต้นแก่ ใบเหลืองออกน้ำตาล และจะพบแคลลัสบนใบหรือขอบใบ และลำต้น (ภาพที่ 22) ในขณะที่บางส่วนเป็นต้นอ่อนจะมีใบสีเขียวอ่อน และไม่ค่อยพบแคลลัสบนใบหรือขอบใบ และเมื่อพิจารณาการให้อาหาร 2 และ 8 ครั้งต่อวัน พบว่า ต้นที่ได้จากการให้อาหาร 8 ครั้งต่อวัน (ภาพที่ 22) จะมีการแตกตาเล็กจำนวนมากที่แตกออกมารอบข้อต่อทำให้มองเห็นข้อชัดเจน และมีรากจำนวนมากและยาวกว่าต้นที่มีการให้อาหาร 2 ครั้งต่อวัน (ภาพที่ 21)

เมื่อพิจารณาส่วนการเกิดหัวของการเพาะเลี้ยงทั้ง 3 แบบ พบว่า ต้นจากอาหารแข็งจะมีการฟอร์มหัวที่ใหญ่ แต่ไม่พบการแตกยอดใหม่และมีการแตกตาขนาดเล็กจำนวนไม่มาก (ภาพที่ 20d) ส่วนต้นที่เพาะเลี้ยงใน TIB จะไม่พบการเกิดหัวที่ชัดเจนเหมือนกับต้นจากอาหารแข็ง แต่จะพบการแตกยอดใหม่ที่ชัดเจนกว่า และมีการแตกตาขนาดเล็กจำนวนมากในลักษณะของการแตกตาของการเพิ่มปริมาณ (ภาพที่ 23d และ 24c) โดยเฉพาะต้นจาก TIB ที่มีการให้อาหาร 8 ครั้งต่อวัน นอกจากนี้ต้นจาก TIB ยังพบตุ่มคล้ายกับการเกิดหัวอยู่บนใบด้วย (ภาพที่ 22d) ซึ่งมีลักษณะคล้ายการเกิดหัวบนใบในสภาพธรรมชาติ (ภาพที่ 18)

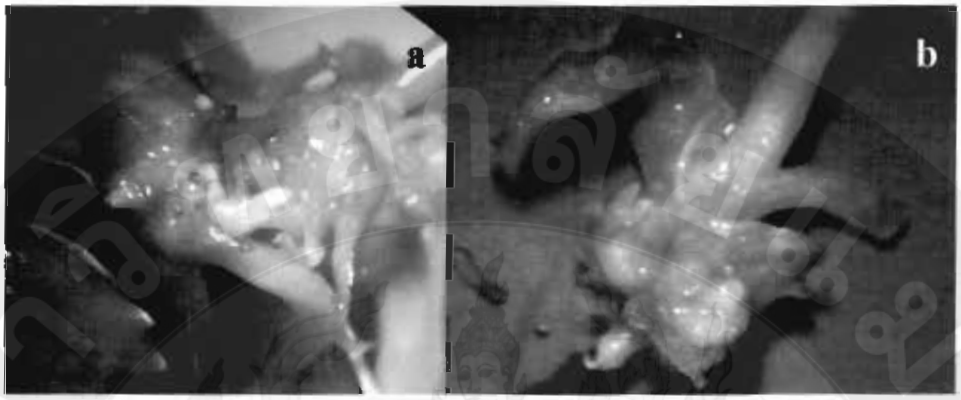
ภาพที่ 18 จุดเจริญที่พัฒนาเป็นหัวบนใบในสภาพธรรมชาติ (ที่มา: ทิพวัลย์, 2546)



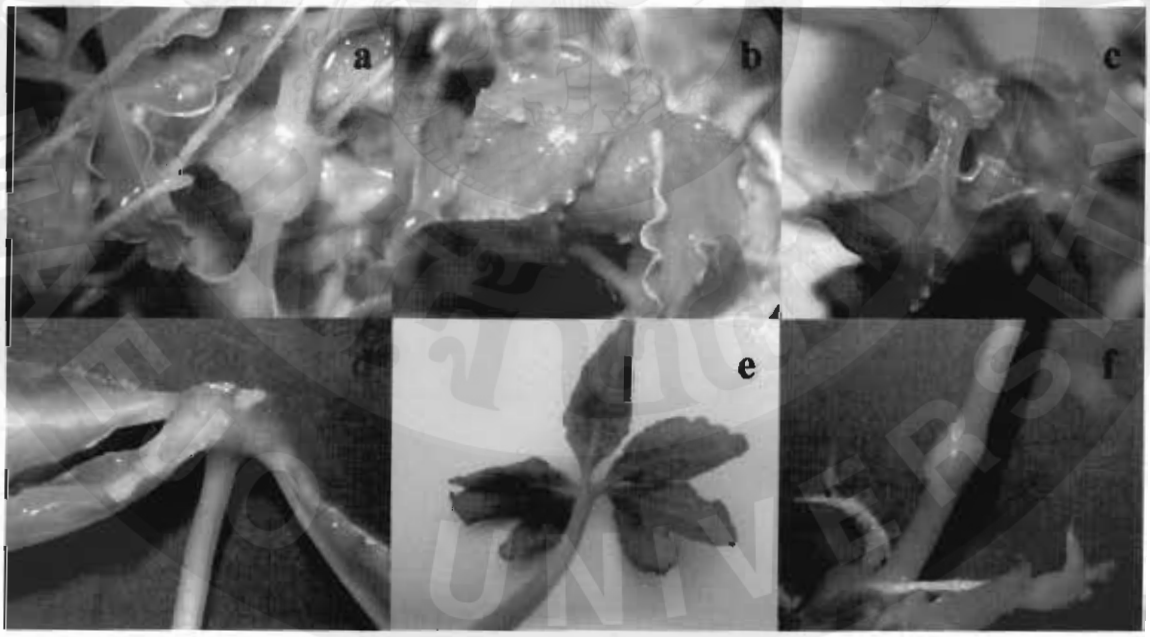
ภาพที่ 19 ต้นบุกเนื้อทรายเมื่อเริ่มต้นการทดลอง (a) เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารแข็ง และใน TIB ที่มีการให้อาหารครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (b)



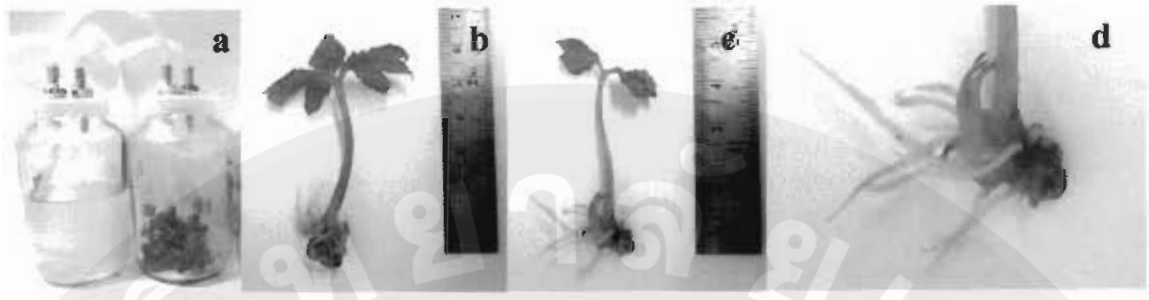
ภาพที่ 20 ต้นบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง (a-d) สูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ต้นมีลักษณะเป็นต้นอ่อนใบเขียว และเกิดมีรากทุกต้น (b) ลำต้นยืดตรงไม่มีแคลลัสบนใบ (c) ซึ่งพบหัวที่มีการฟอร์มของหัวใหญ่ ไม่พบยอดที่งอกใหม่และตาเล็กที่แตกออกมาจำนวนไม่มาก (d)



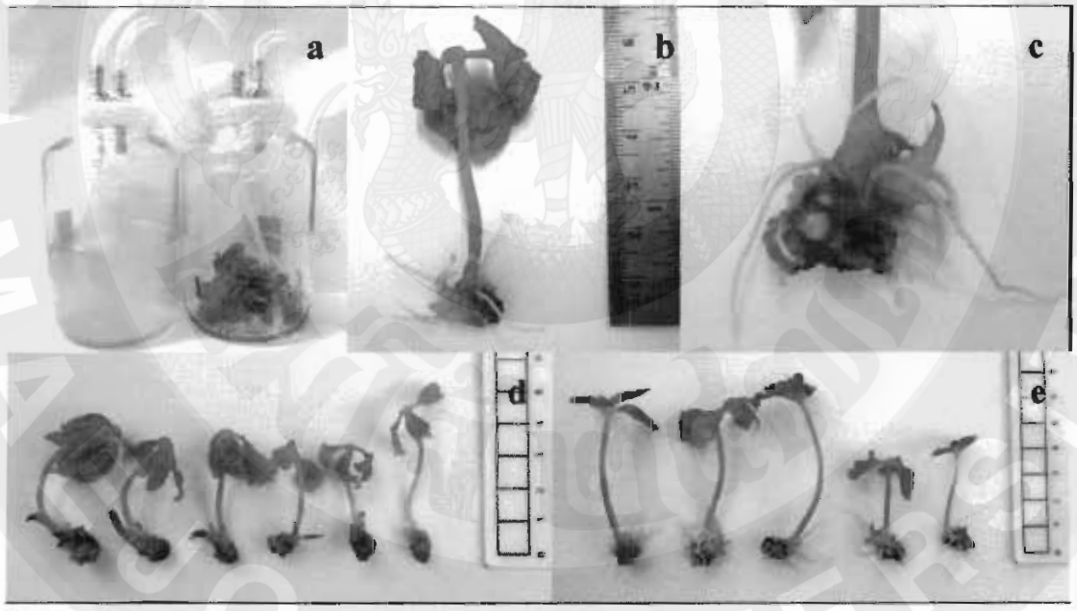
ภาพที่ 21 ลักษณะของหัวต้นบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ทั้งที่มีการให้อาหาร 2 ครั้งต่อวัน (a) และ 8 ครั้งต่อวัน (b) ในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบหัวที่มีการแตกของยอดใหม่ และมีการแตกตาขนาดเล็กจำนวนมาก



ภาพที่ 22 ลักษณะของหัวต้นบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ทั้งที่มีการให้อาหาร 2 และ 8 ครั้งต่อวัน ในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบลักษณะของการมีแคลลัสบนใบ (a-d) ที่เป็นก้อนขนาดใหญ่ (a-b) บางชิ้นส่วนมีเมือดเล็กๆ อยู่บนก้อน (c) และบางชิ้นส่วนมีการพัฒนาคล้ายกับยอดขนาดเล็ก (d) นอกจากนี้ยังพบแคลลัสเกิดขึ้นบริเวณขอบใบ (e) และลำต้น (f)



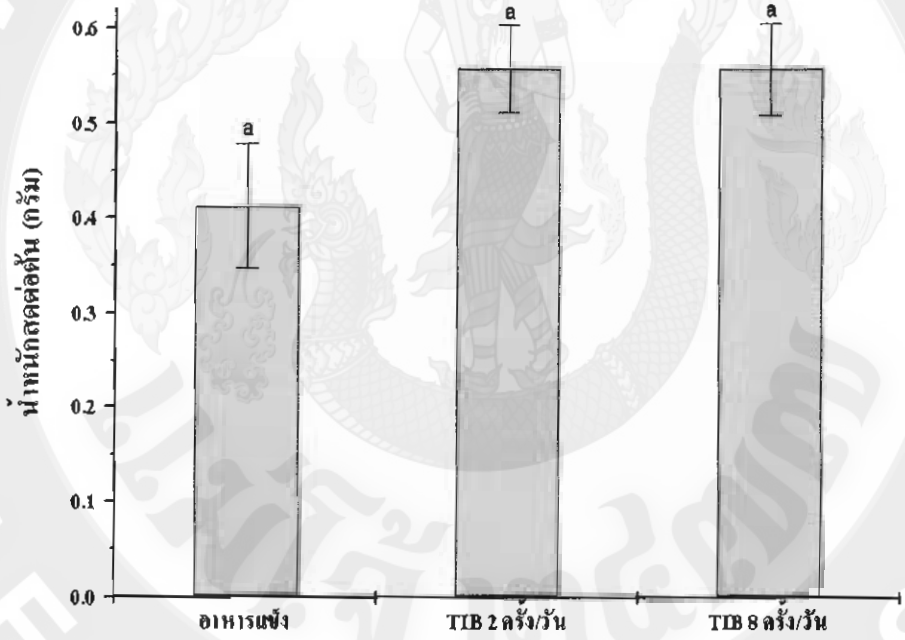
ภาพที่ 23 ต้นบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่มีการให้อาหารนานครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 ครั้งต่อวัน (a-d) ในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ต้นมีลักษณะเป็นต้นแก่ใบเหลือง (b) และต้นอ่อนใบเขียว (c) ซึ่งพบหัวที่มีการยอดงอก แตกตาเล็ก และมีรากมาก (d)



ภาพที่ 24 ต้นบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่มีการให้อาหารนานครั้งละ 5 นาที จำนวน 8 ครั้งต่อวัน (a-e) ในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ต้นมีลักษณะเป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่ไม่มีรากเป็นต้นแก่ใบเหลือง (d) และกลุ่มที่มีรากเป็นต้นอ่อนใบเขียว (e) นอกจากนี้บนใบยังพบแคลลัสขนาดใหญ่ (b) และบริเวณหัวพบยอดที่งอกใหม่ขนาดใหญ่ซึ่งมีการแตกตาเล็กและมีรากมาก (c)

2. น้ำหนักสดต่อต้น

จากการเพาะเลี้ยงบุกเนื้อทรายในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารแข็ง และใน TIB ที่มีการให้อาหารครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ในภาพที่ 7 พบว่า น้ำหนักสดต่อต้นของบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งและใน TIB ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ แต่เป็นที่สังเกตว่าน้ำหนักสดต่อต้นของบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ทั้งที่มีการให้อาหาร 2 และ 8 ครั้งต่อวัน มีน้ำหนักสดต่อต้นใกล้เคียงกัน คือ 0.5576 และ 0.5569 กรัม ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB มีน้ำหนักสดต่อต้นมากกว่าต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งที่มีน้ำหนักสดต่อต้นเพียง 0.4129 กรัม (ภาพที่ 25)

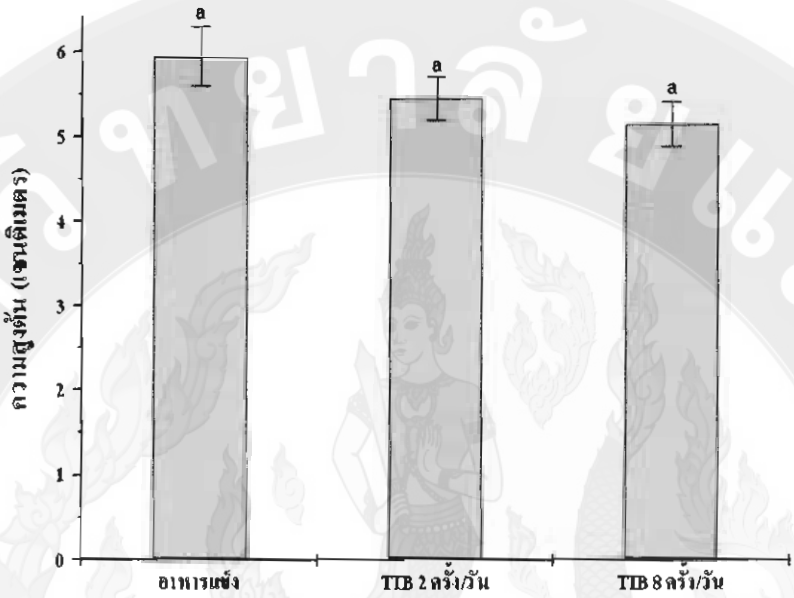


ภาพที่ 25 น้ำหนักสดต่อต้นของบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ในอาหารแข็ง และใน TIB ที่มีการให้อาหารครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน

3. ความสูงต้น

จากภาพที่ 26 ความสูงต้นของบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารแข็ง และใน TIB ที่มีการให้อาหารครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ต้นบุกที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งมีต้นสูง

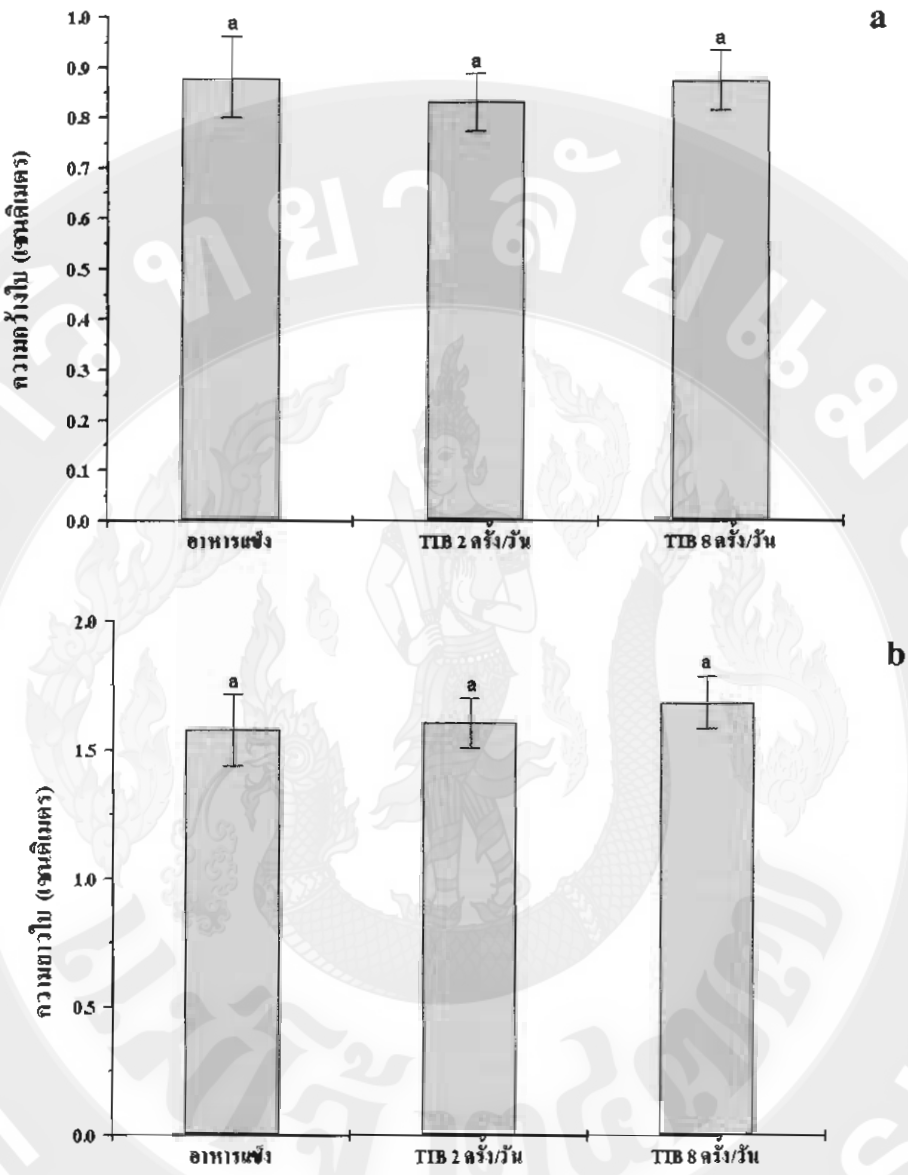
ที่สุด คือ 5.94 เซนติเมตร รองลงมา คือ ต้นบุกที่เพาะเลี้ยงใน TIB ที่มีการให้อาหาร 2 และ 8 ครั้งต่อวัน ตามลำดับ ซึ่งมีต้นสูง 5.44 และ 5.14 เซนติเมตร ตามลำดับ



ภาพที่ 26 ความสูงต้นของบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ในอาหารแข็ง และใน TIB ที่มีการให้อาหารครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน

4. ความกว้างและความยาวใบ

จากภาพที่ 27 ความกว้างใบและความยาวใบของบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารแข็ง และใน TIB ที่มีการให้อาหารครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ความกว้างใบและความยาวใบของต้นบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงใน 3 กรรมวิธี ไม่มีความแตกต่างกัน โดยจะเห็นได้ว่าใบของบุกเนื้อทรายมีความกว้างใบอยู่ระหว่าง 0.8-0.9 เซนติเมตร และความยาวใบอยู่ระหว่าง I.6-1.7 เซนติเมตร



ภาพที่ 27 ความกว้างใบ (a) และความยาวใบ (b) ของบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ในอาหารแข็ง และใน TIB ที่มีการให้อาหารครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน

5. การเกิดรากและจำนวนรากต่อต้น

จากภาพที่ 28a บุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารแข็ง และใน TIB ที่มีการให้อาหารครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า บุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งมีต้นที่ออกรากถึง

100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมากกว่าต้นบุกที่เพาะเลี้ยงใน TIB ที่มีการให้อาหารจำนวน 2 และ 8 ครั้งต่อวัน ที่มีเปอร์เซ็นต์ต้นออกรากเพียง 75 และ 55.56 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

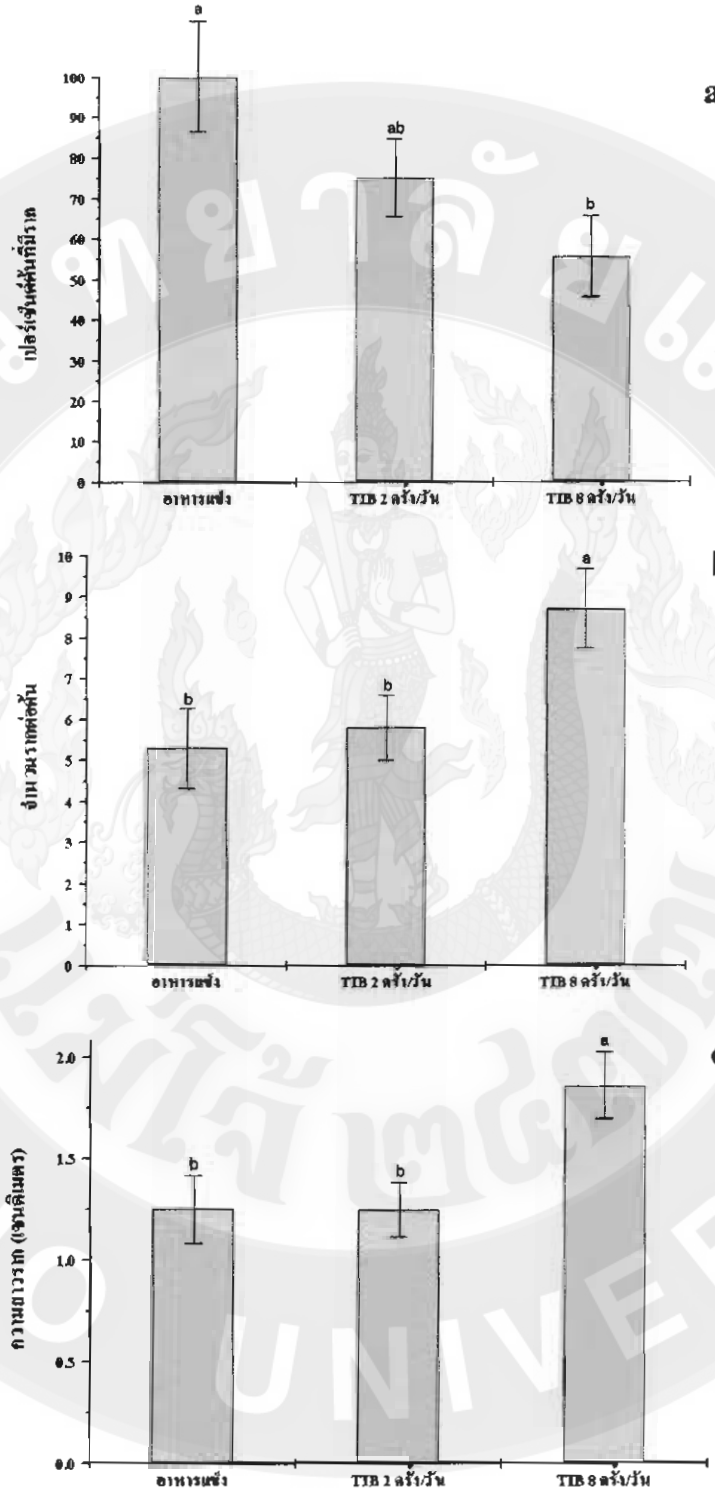
แต่ในขณะที่จำนวนรากต่อต้นของบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงใน TIB ที่มีการให้อาหารจำนวน 8 ครั้งต่อวัน มีจำนวนรากมากที่สุดถึง 8.7 รากต่อต้น (ภาพที่ 28b) ซึ่งมากกว่าต้นจาก TIB ที่มีการให้อาหารจำนวน 2 ครั้งต่อวัน และอาหารแข็งที่มีจำนวนราก 5.8 และ 5.3 รากต่อต้นตามลำดับ เช่นเดียวกันกับผลของความยาวรากที่ต้นจาก TIB ที่มีการให้อาหาร 8 ครั้งต่อวัน มีรากยาวที่สุดถึง 1.86 เซนติเมตร (ภาพที่ 28c) ซึ่งมากกว่าต้นที่ได้จาก TIB ที่มีการให้อาหาร 2 ครั้งต่อวัน และอาหารแข็งซึ่งมีรากยาวเพียง 1.24 และ 1.25 เซนติเมตร ตามลำดับ

6. เปอร์เซ็นต์ต้นที่มียอดใหม่งอก

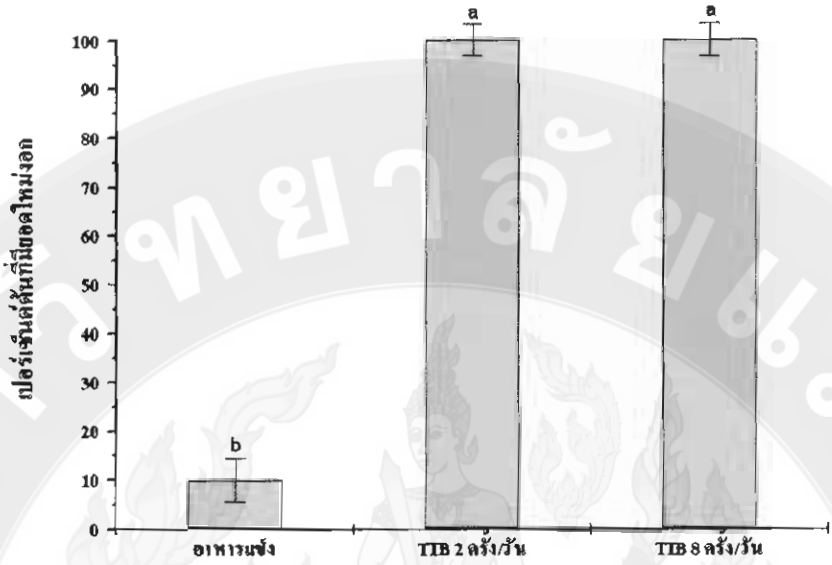
จากภาพที่ 29 บุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารแข็ง และใน TIB ที่มีการให้อาหารครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นที่เพาะเลี้ยงใน TIB ทั้งที่มีการให้อาหาร 2 และ 8 ครั้งต่อวัน มียอดใหม่งอกถึง 100 เปอร์เซ็นต์หรือทุกต้น แต่ในขณะที่ต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งพบต้นที่มียอดใหม่งอกเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมียอดใหม่งอกน้อยกว่าต้นที่ได้จาก TIB อย่างเห็นได้ชัด

7. จำนวนตาเล็กที่เกิดใหม่ต่อต้น

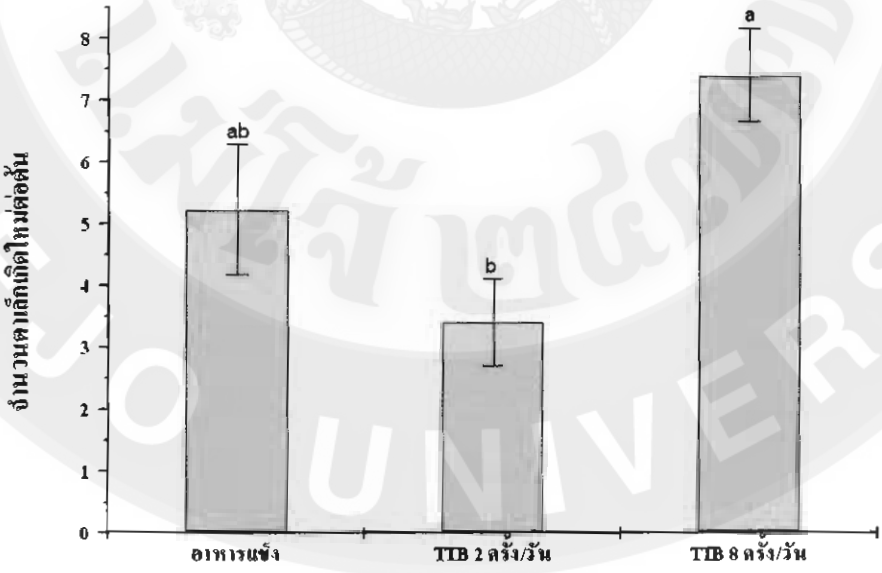
จากภาพที่ 30 บุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารแข็ง และใน TIB ที่มีการให้อาหารครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นที่เพาะเลี้ยงใน TIB ที่มีการให้อาหาร 8 ครั้งต่อวัน มีจำนวนตาเล็กเกิดใหม่มากที่สุดถึง 7.39 ตาต่อต้น รองลงมาเป็นต้นที่ได้จากอาหารแข็งมีจำนวนตาเล็กเกิดใหม่ถึง 5.22 ตาต่อต้น แต่ในขณะที่ต้นใน TIB ที่มีการให้อาหาร 2 ครั้งต่อวัน มีจำนวนตาเล็กเกิดใหม่น้อยที่สุดเพียง 3.4 ตาต่อต้น



ภาพที่ 28 เปอร์เซ็นต์ต้นที่มีราก (a) จำนวนรากต่อต้น (b) และความยาวราก (c) ของบุกเนื้อทราย ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ในอาหารแข็ง และใน TIB ที่มีการให้อาหารครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน



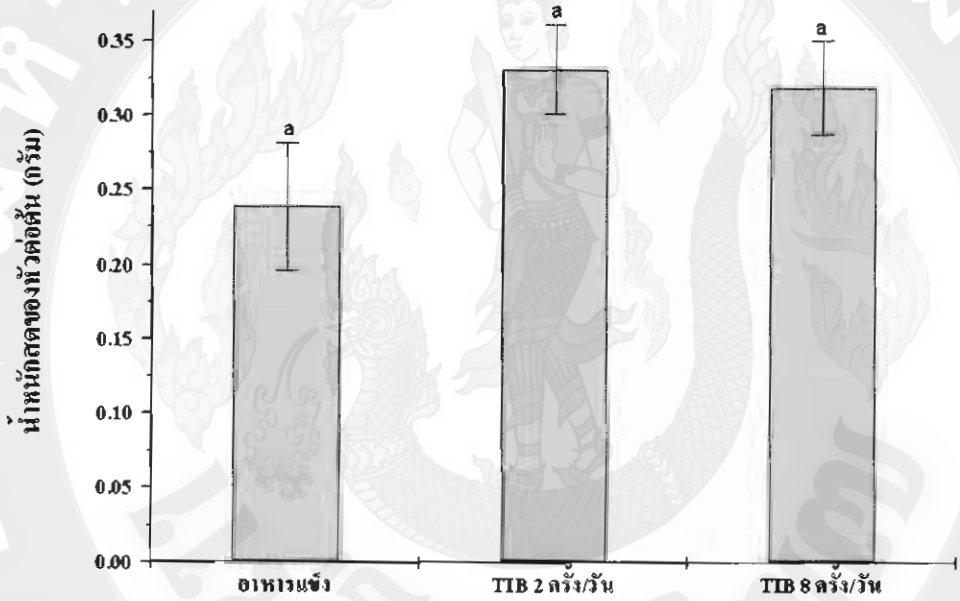
ภาพที่ 29 เปอร์เซ็นต์ต้นที่มียอดใหม่งอกของต้นบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ในอาหารแข็ง และใน TIB ที่มีการให้อาหารครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน



ภาพที่ 30 จำนวนตาเล็กเกิดใหม่ต่อต้นบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ในอาหารแข็ง และใน TIB ที่มีการให้อาหารครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน

8. น้ำหนักสดหัวต่อต้น

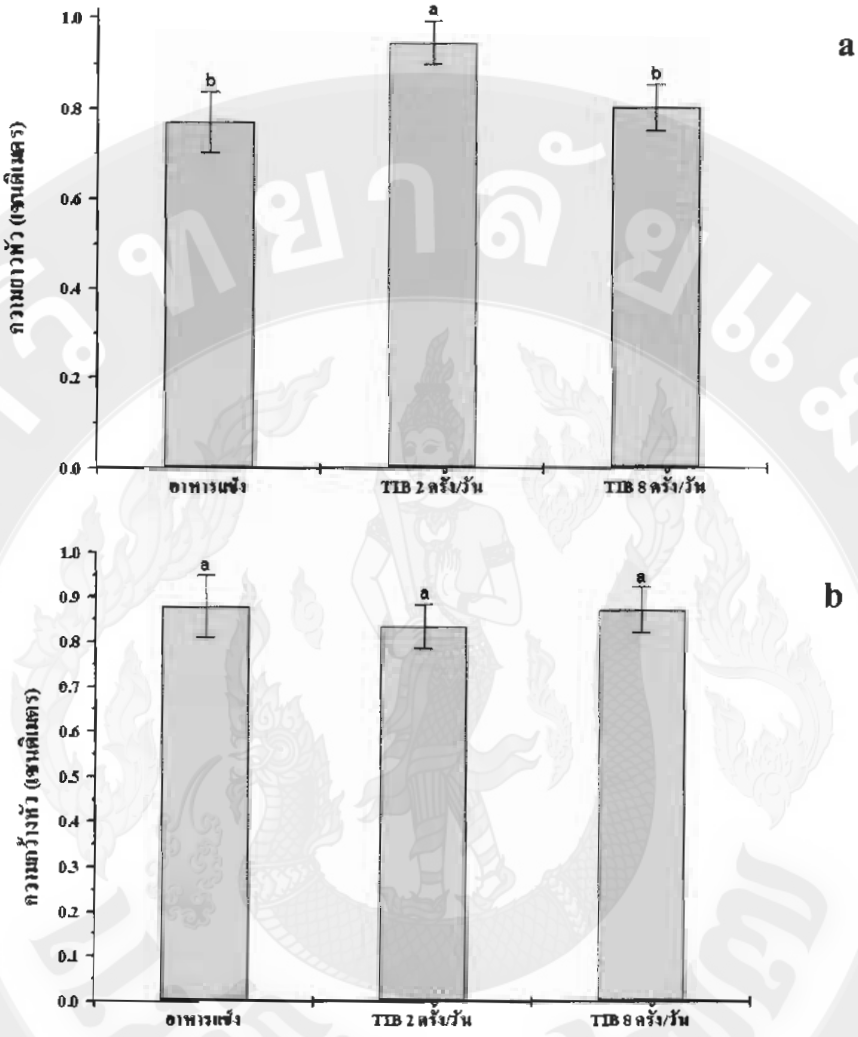
จากภาพที่ 31 บุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารแข็ง และใน TIB ที่มีการให้อาหารครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าต้นที่เพาะเลี้ยงใน TIB มีน้ำหนักสดหัวต่อต้นสูง โดยต้นที่ได้จาก TIB ทั้งที่มีการให้อาหาร 2 และ 8 ครั้งต่อวัน มีน้ำหนักสดหัวใกล้เคียงกันคือ 0.33 และ 0.31 กรัมตามลำดับ ซึ่งมากกว่าต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งที่มีน้ำหนักสดหัวเท่ากับ 0.23 กรัม



ภาพที่ 31 น้ำหนักสดหัวต่อต้นบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ในอาหารแข็ง และใน TIB ที่มีการให้อาหารครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน

9. ขนาดของหัว

จากภาพที่ 32 บุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารแข็ง และใน TIB ที่มีการให้อาหารครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า บุกที่เพาะเลี้ยงใน TIB โดยเฉพาะที่มีการให้อาหาร 2 ครั้งต่อวัน มีหัวยาวถึง 0.94 เซนติเมตร (ภาพที่ 32a) ซึ่งยาวกว่าต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง ที่มีความยาวเท่ากับ 0.77 เซนติเมตร และในขณะที่ความกว้างของหัวบุกที่เพาะเลี้ยงในทั้ง 3 วิธี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ คือ อยู่ในช่วง 0.8-0.9 เซนติเมตร (ภาพที่ 32b) ดังนั้นขนาดหัวของต้นที่เพาะเลี้ยงใน TIB มีขนาดใหญ่กว่าหัวของต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง

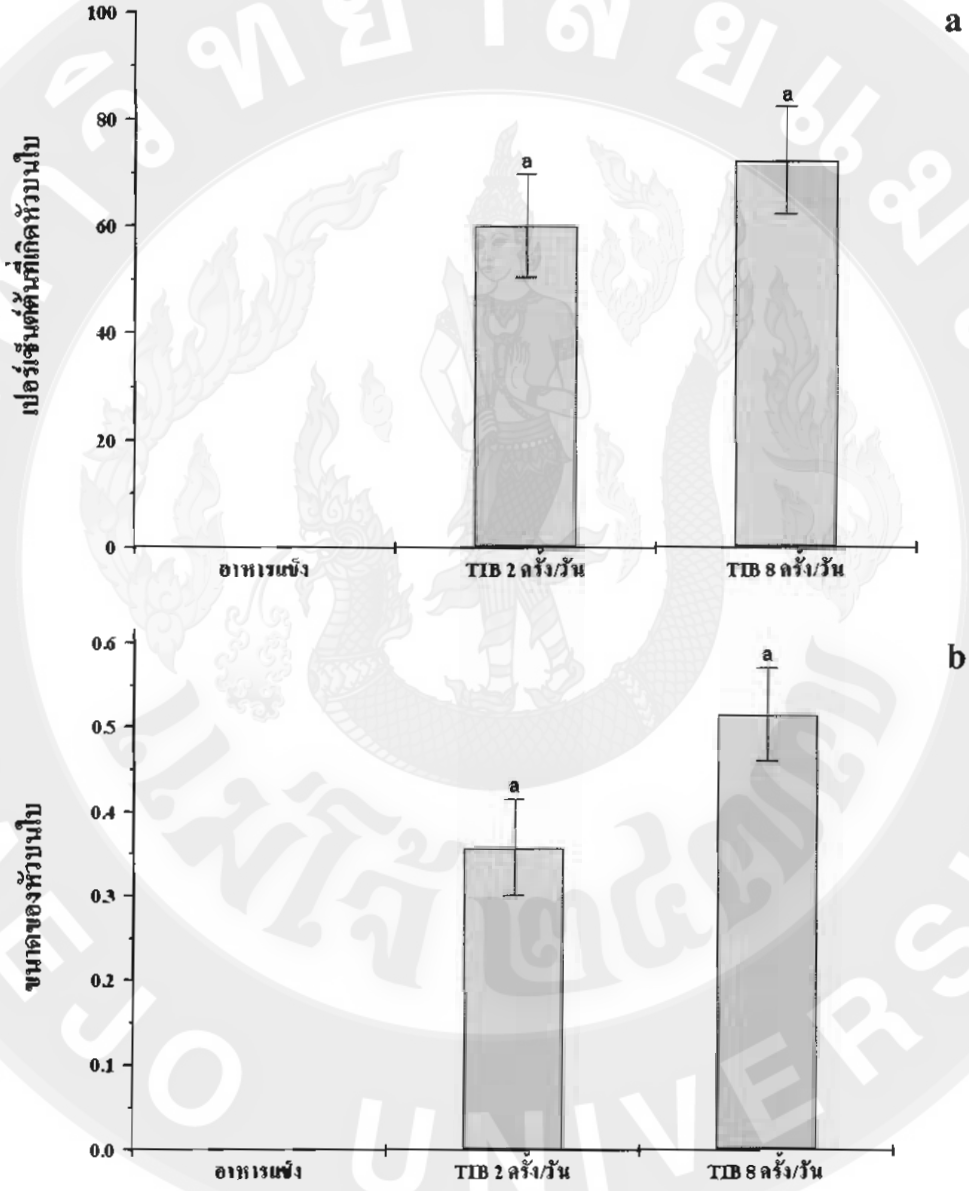


ภาพที่ 32 ขนาดหัว คือ ความยาวหัว (a) และความกว้างหัว (b) ของต้นบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ในอาหารแข็ง และใน TIB ที่มีการให้อาหารครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน

10. เปอร์เซ็นต์ต้นที่เกิดหัวบนใบ

จากภาพที่ 33a บุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารแข็ง และใน TIB ที่มีการให้อาหารครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า บนใบของบุกที่เพาะเลี้ยงใน TIB มีการเกิดหัวขึ้น แต่ในขณะที่ต้นบุกที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งไม่มีการเกิดหัวบนใบ โดยใน TIB ที่มีการให้อาหาร 8 ครั้งต่อวัน มีต้นที่มีหัวบนใบเกิดขึ้นถึง 72.22 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเกิดขึ้นมากกว่าต้นที่มีการให้อาหาร 2 ครั้งต่อวัน ที่พบว่ามีต้นที่มีหัวบนใบเพียง 60 เปอร์เซ็นต์

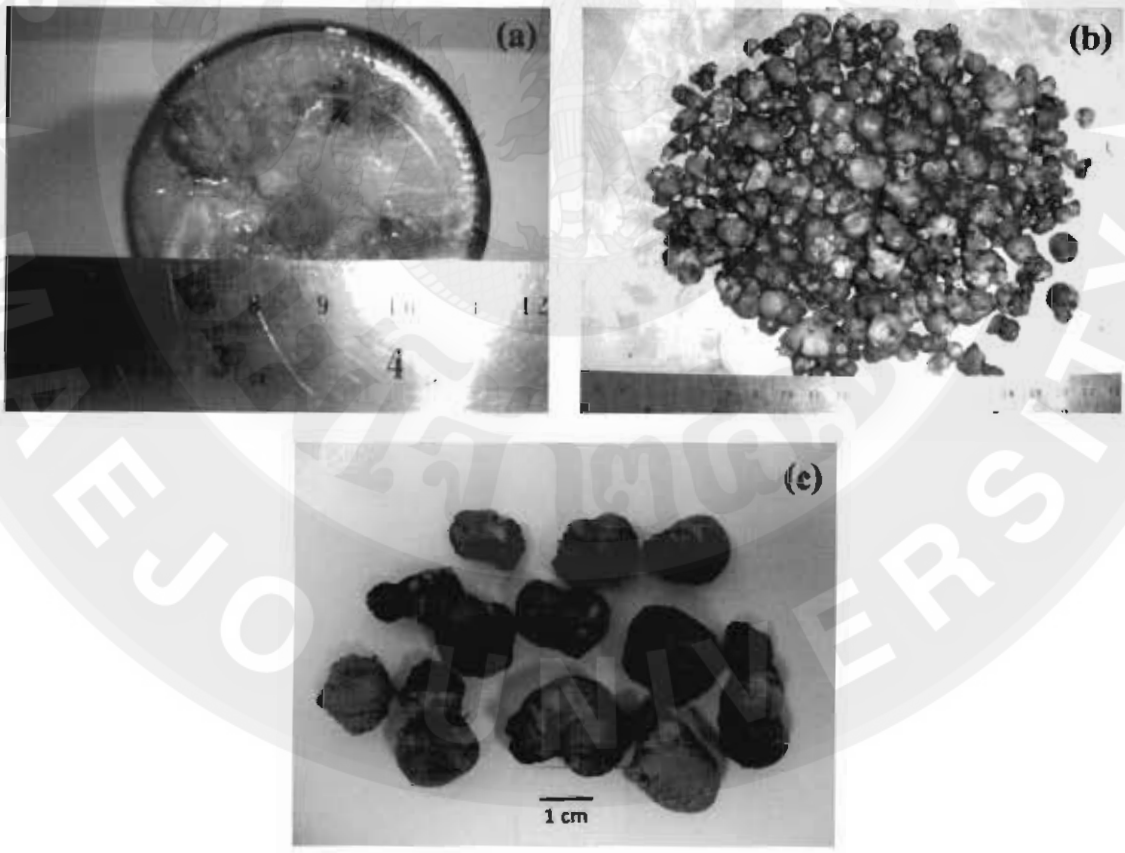
เมื่อพิจารณาของขนาดหัวที่เกิดขึ้นนั้นจะเห็นได้ว่า หัวที่เกิดตรงกลางใบของต้นบุกที่เพาะเลี้ยงใน TIB ที่มีการให้อาหาร 8 ครั้งต่อวัน มีขนาดถึง 0.51 เซนติเมตร ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าต้นที่เพาะเลี้ยงใน TIB ที่มีการให้อาหาร 2 ครั้งต่อวัน ที่มีขนาดเท่ากับ 0.36 เซนติเมตร (ภาพที่ 33b)



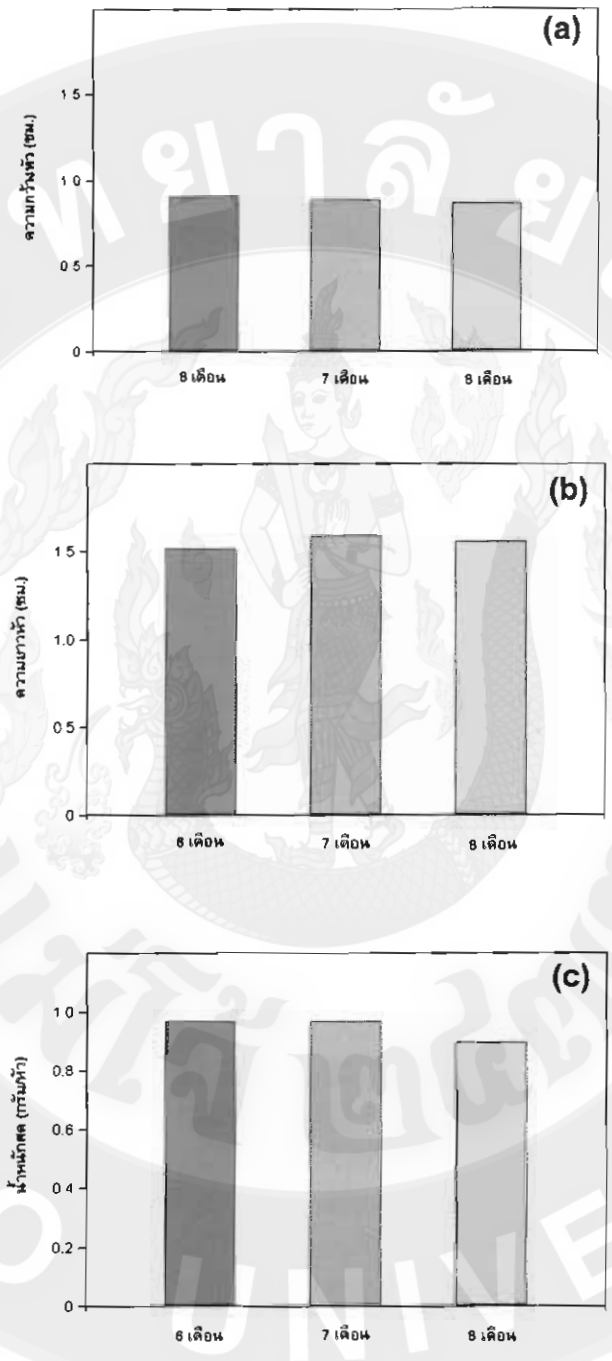
ภาพที่ 33 เปอร์เซ็นต์ต้นที่มีเกิดหัวบนใบ (a) และขนาดของหัวบนใบ (b) ของต้นบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ในอาหารแข็ง และใน TIB ที่มีการให้อาหารครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน

III ระยะเวลาที่เหมาะสมในการเก็บรักษาหัวบุกเนื้อทรายขนาดจิ๋วในสภาพปลอดเชื้อ

ภายหลังจากนำต้นบุกเนื้อทรายขนาดความสูง 4.0 เซนติเมตร มีส่วนของฐาน 0.3 เซนติเมตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรพื้นฐานที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยไม่ทำการเก็บเกี่ยวหัวเป็นเวลานาน 6, 7 และ 8 เดือน เพื่อเก็บรักษาหัวไว้ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า ต้นบุกที่ใช้เป็นชิ้นส่วนตั้งต้นจะมีการเกิดหัวบริเวณส่วนฐานของลำต้น (ภาพที่ 34a) จากนั้นต้นบุกจะยุบตัวและมีการแทงต้นใหม่ขึ้นมาแทนต้นเดิม จากนั้นจะเกิดหัวใหม่ขึ้นมาบนหัวเดิมเหมือนในสภาพธรรมชาติ แต่หัวเก่ายังคงอยู่ ทำให้หัวที่ได้บางหัวไม่กลม หัวมีความยาวเพิ่มขึ้นและเสียรูปทรง (ภาพที่ 34b-c) โดยพบว่า ขนาดของหัว ซึ่งได้แก่ ความกว้างและความยาวหัว รวมถึงน้ำหนักสดของหัวไม่มีความแตกต่างกัน คือ ต้นที่เพาะเลี้ยงนาน 6, 7 และ 8 เดือน มีขนาดความกว้างของหัว 0.87-0.91 เซนติเมตร ขนาดความยาวหัว 1.52-1.56 เซนติเมตร และน้ำหนักสดหัว 0.90-0.97 กรัมต่อหัว (ภาพที่ 35a-c)

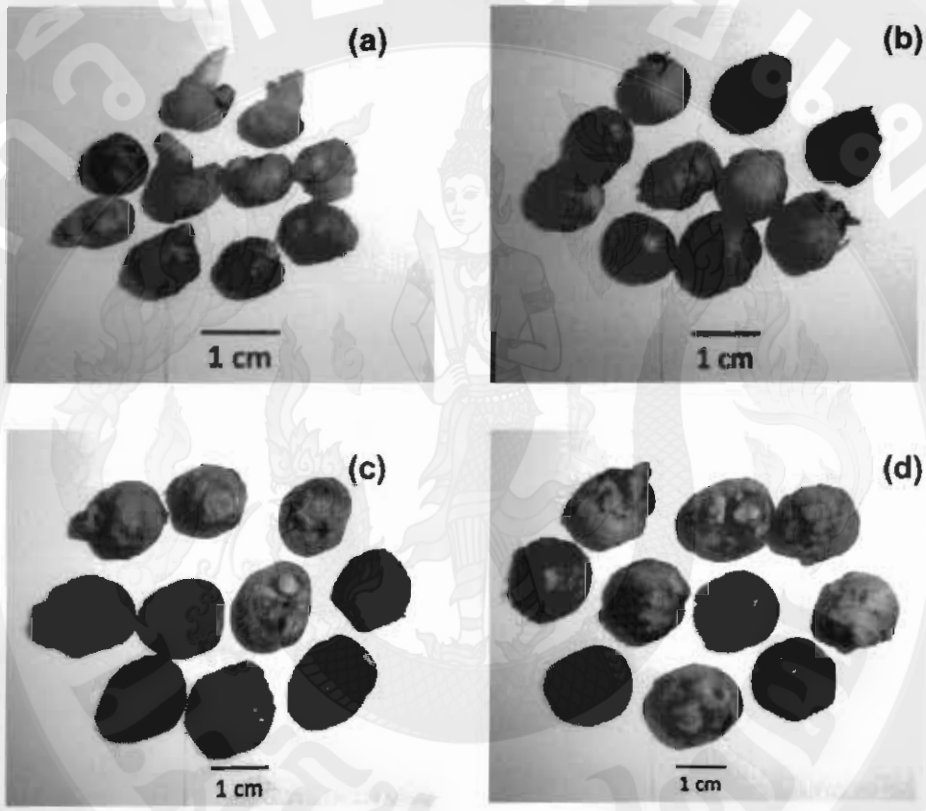


ภาพที่ 34 หัวบุกเนื้อทรายที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตรพื้นฐานที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (a) หัวค่อนข้างกลมและเกิดบริเวณส่วนฐานของลำต้น (b) หัวขนาดต่างๆ ที่เก็บเกี่ยวได้ และ (c) หัวมีความยาวเพิ่มขึ้นและผิดรูปทรง



ภาพที่ 35 ขนาดของหัวบุกเนื้อทราย (a) ความกว้างหัว (b) ความยาวหัว และ (c) น้ำหนักสดหัว ที่เพาะเลี้ยงนาน 6, 7 และ 8 เดือน

เมื่อนำหัวที่ได้ทั้งหมดในแต่ละกรรมวิธีมาหาเปอร์เซ็นต์ความกว้างหัว โดยวัดจากขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัว สามารถแบ่งหัวออกเป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มขนาดหัวน้อยกว่า 0.5 เซนติเมตร กลุ่มขนาดหัว 0.6-1.0 เซนติเมตร กลุ่มขนาดหัว 1.1-1.5 เซนติเมตร และกลุ่มขนาดหัว 1.6-2.0 เซนติเมตร (ภาพที่ 36a-d)



ภาพที่ 36 หัวบุกเนื้อทรายขนาดต่างๆ (a) ขนาดหัวน้อยกว่า 0.5 เซนติเมตร (b) ขนาดหัว 0.6-1.0 เซนติเมตร (c) ขนาดหัว 1.1-1.5 เซนติเมตร และ (d) ขนาดหัว 1.6-2.0 เซนติเมตร ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตรพื้นฐานที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

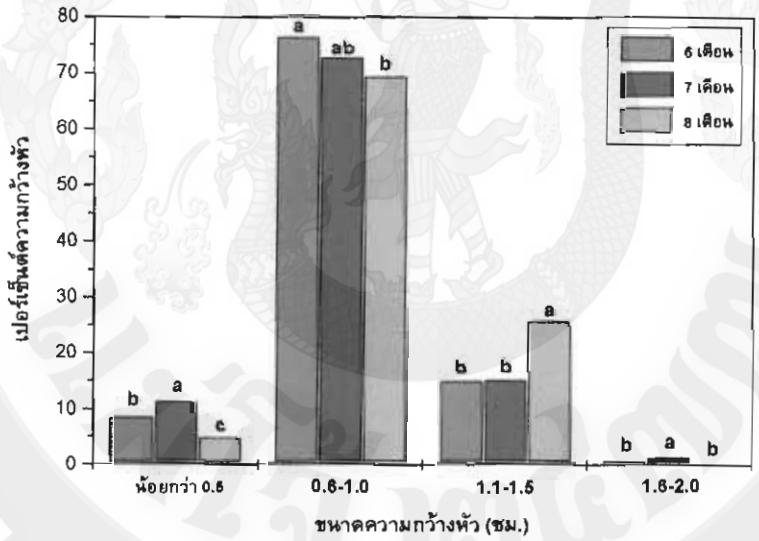
จากผลการทดลอง พบว่า ต้นบุกที่เพาะเลี้ยงนาน 6,7 และ 8 เดือน ให้ขนาดความกว้างหัวในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือ ทุกกรรมวิธีมีขนาดหัวอยู่ในช่วง 0.6-1.0 เซนติเมตร มากที่สุด รองลงมาคือ 1.1-1.5 เซนติเมตร น้อยกว่า 0.5 เซนติเมตร และ 1.6-2.0 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 37)

กลุ่มขนาดหัว 0.6-1.0 เซนติเมตร ต้นที่เพาะเลี้ยงนาน 6 เดือน มีเปอร์เซ็นต์ความกว้างหัว 0.6-1.0 เซนติเมตร มากที่สุด คือ 76.2% รองลงมาคือ ต้นที่เพาะเลี้ยงนาน 7 และ 8 เดือน ที่มีเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 72.6 และ 69.1% ตามลำดับ (ภาพที่ 37)

กลุ่มขนาดหัว 1.1-1.5 เซนติเมตร ต้นที่เพาะเลี้ยงนาน 8 เดือน มีเปอร์เซ็นต์ความกว้างหัว 1.1-1.5 เซนติเมตร มากที่สุด คือ 25.7% แตกต่างจากต้นที่เพาะเลี้ยงนาน 6 และ 7 เดือน ที่มีเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 14.7 และ 14.9% ตามลำดับ (ภาพที่ 37)

กลุ่มขนาดหัวน้อยกว่า 0.5 เซนติเมตร ต้นที่เพาะเลี้ยงนาน 7 เดือน มีเปอร์เซ็นต์ความกว้างหัว น้อยกว่า 0.5 เซนติเมตร มากที่สุด คือ 11.1% ซึ่งแตกต่างจากต้นที่เพาะเลี้ยงนาน 6 และ 8 เดือน ที่มีเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 8.4 และ 4.7% ตามลำดับ (ภาพที่ 37)

กลุ่มขนาดหัว 1.6-2.0 เซนติเมตร เป็นขนาดหัวที่มีความกว้างหัวมากที่สุดและมีเปอร์เซ็นต์น้อยที่สุดกว่ากลุ่มอื่นๆ โดยเฉพาะต้นที่เพาะเลี้ยงนาน 7 เดือน มีเปอร์เซ็นต์ความกว้างหัว 1.6-2.0 เซนติเมตร มากที่สุด คือ 1.4% แตกต่างจากต้นที่เพาะเลี้ยงนาน 6 และ 8 เดือน ที่มีเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 0.7 และ 0.5% ตามลำดับ (ภาพที่ 37)



ภาพที่ 37 เปอร์เซ็นต์ความกว้างหัวบุกเนื้อทรายของต้นที่เพาะเลี้ยงนาน 6, 7 และ 8 เดือน

ได้นำหัวบุกเนื้อทรายที่มีอายุ 6 เดือน ภายหลังจากทำการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ มาหาน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และเปอร์เซ็นต์มวลแห้งของหัว พบว่า มีน้ำหนักสดหัวเฉลี่ย 0.97 กรัมต่อหัว น้ำหนักแห้ง 0.07 กรัมต่อหัว และมีเปอร์เซ็นต์มวลแห้ง 7.19% (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และเปอร์เซ็นต์มวลแห้งของหัวบุกเนื้อทรายที่เพาะเลี้ยงนาน 6 เดือน

อายุ	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	เปอร์เซ็นต์มวลแห้ง
6 เดือน	0.97	0.07	7.19

IV การปลูกทดสอบต้นบุกเนื้อทรายในแปลงปลูก

ภายหลังจากการนำต้นบุกเนื้อทรายอายุ 3 เดือน ที่ได้จากโรงเรือนเพาะเลี้ยงต้นกล้าอ่อน ลงปลูกทดสอบระดับความเข้มแสง 4 ระดับ คือ 30, 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ และภายใต้สภาพร่มเงาร่วมกับระยะปลูก 2 ระยะ คือ 40x40 และ 60x60 เซนติเมตร เป็นเวลานาน 5.5 เดือน พบการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิต ดังนี้

1. การเจริญเติบโต

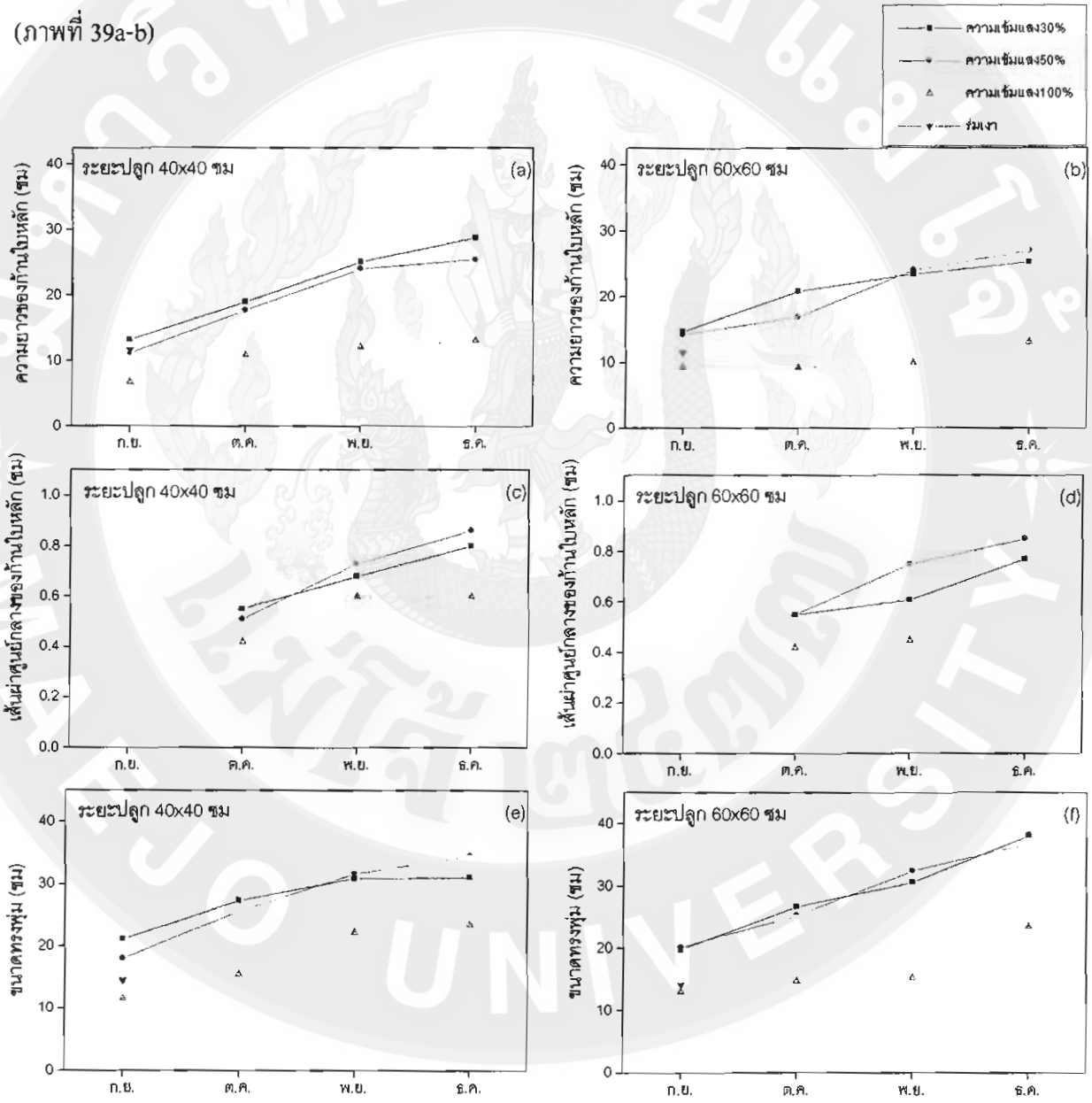
ต้นบุกเนื้อทรายที่ปลูกภายใต้ความเข้มแสง 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะปลูก 40x40 และ 60x60 เซนติเมตร มีการเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่องใกล้เคียงกันภายหลังจากย้ายปลูกได้นาน 4 เดือน ในด้านความยาวก้านใบหลัก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางก้านใบหลัก ขนาดทรงพุ่ม และความยาวใบ (ภาพที่ 38a-f และ 39a-b) จากนั้นจะหยุดการเจริญเติบโต ใบเริ่มเหลืองและยุบตัวในที่สุด ในขณะที่ต้นบุกที่ปลูกภายใต้ความเข้มแสง 100 เปอร์เซ็นต์ และภายใต้สภาพร่มเงามีการเจริญเติบโตได้น้อยกว่า โดยเฉพาะต้นบุกที่ปลูกภายใต้สภาพร่มเงาที่มีการเจริญเติบโตได้เพียง 1 เดือนเท่านั้น ต้นก็ยุบตัว

จากเดือนที่ 1-4 (เดือนกันยายน-ธันวาคม) หลังย้ายปลูก ต้นบุกที่ปลูกภายใต้สภาพความเข้มแสง 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์ มีความยาวก้านใบหลักมากที่สุดอยู่ในช่วง 25.4-28.8 เซนติเมตร ที่ระยะปลูก 40x40 เซนติเมตร และ 25.3-27.0 เซนติเมตร ที่ระยะปลูก 60x60 เซนติเมตร ซึ่งแตกต่างจากต้นบุกเนื้อทรายที่ปลูกภายใต้ความเข้มแสง 100 เปอร์เซ็นต์ และภายใต้สภาพร่มเงาที่มีความยาวก้านใบเพียง 13.2 และ 11.8 เซนติเมตร ตามลำดับ ที่ระยะปลูก 40x40 เซนติเมตร และที่ระยะปลูก 60x60 เซนติเมตร เท่ากับ 10.0 และ 11.5 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 38a-b)

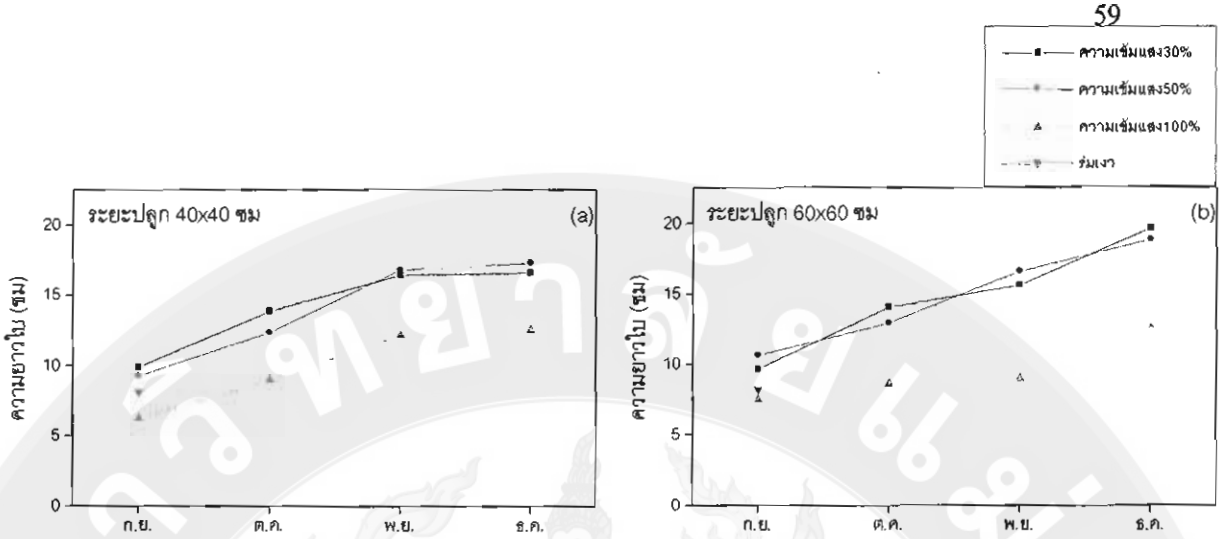
ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางก้านใบหลักเริ่มวัดในเดือนที่ 2 (สิงหาคม) ซึ่งพบว่า ต้นบุกเนื้อทรายที่ปลูกภายใต้ความเข้มแสง 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ทั้ง 2 ระยะปลูก มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางก้านใบหลักในเดือนที่ 2, 3 และ 4 ไม่แตกต่างกัน คือ 0.51-0.55, 0.61-0.75 และ 0.77-0.86 เซนติเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 38c-d) แต่เมื่อเพิ่มความเข้มแสงเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ ต้นบุกจะมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางใบหลักน้อยที่สุดทั้ง 2 ระยะปลูก

ขนาดทรงพุ่ม ต้นบุกเนื้อทรายที่ปลูกภายใต้ความเข้มแสง 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะปลูก 40x40 และ 60x60 เซนติเมตร มีขนาดทรงพุ่มใกล้เคียงกันทั้ง 4 เดือน โดยในเดือนที่ 1, 2, 3 และ 4 มีขนาดทรงพุ่มอยู่ในช่วง 18.03-21.1, 25.28-27.34, 30.62-32.43 และ 31.0-38.0 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ต้นบุกภายใต้ความเข้มแสง 100 เปอร์เซ็นต์ มีขนาดทรงพุ่มในเดือนที่ 4 เพียง 23.5 เซนติเมตร และต้นบุกภายใต้สภาพร่มเงาในเดือนที่ 1 เท่ากับ 14.5 เซนติเมตร เท่านั้น (ภาพที่ 38e-f)

ความยาวใบ ถึงแม้ว่าในเดือนที่ 1 ต้นบุกที่ปลูกภายใต้สภาพความเข้มแสง 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะปลูก 60x60 เซนติเมตร จะมีความยาวใบมากที่สุด คือ 11.52 เซนติเมตร แต่หลังจากนั้นในเดือนที่ 2, 3 และ 4 กลับพบว่า ความยาวใบของต้นบุกภายใต้ความเข้มแสง 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ทั้ง 2 ระยะปลูก ไม่มีความแตกต่างกัน โดยในเดือนที่ 4 มีความยาวใบอยู่ในช่วง 16.61-18.86 เซนติเมตร ซึ่งมากกว่าต้นบุกที่ปลูกภายใต้ความเข้มแสง 100 เปอร์เซ็นต์ และภายใต้สภาพร่มเงา (ภาพที่ 39a-b)



ภาพที่ 38 ผลของระดับความเข้มแสง และระยะปลูกต่อการเจริญเติบโตของบุกเนื้อทรายภายหลังจากปลูกทดสอบนาน 4 เดือน (a) และ (b) ความยาวก้านใบหลัก (c) และ (d) เส้นผ่าศูนย์กลางของก้านใบหลัก (e) และ (f) ขนาดทรงพุ่ม

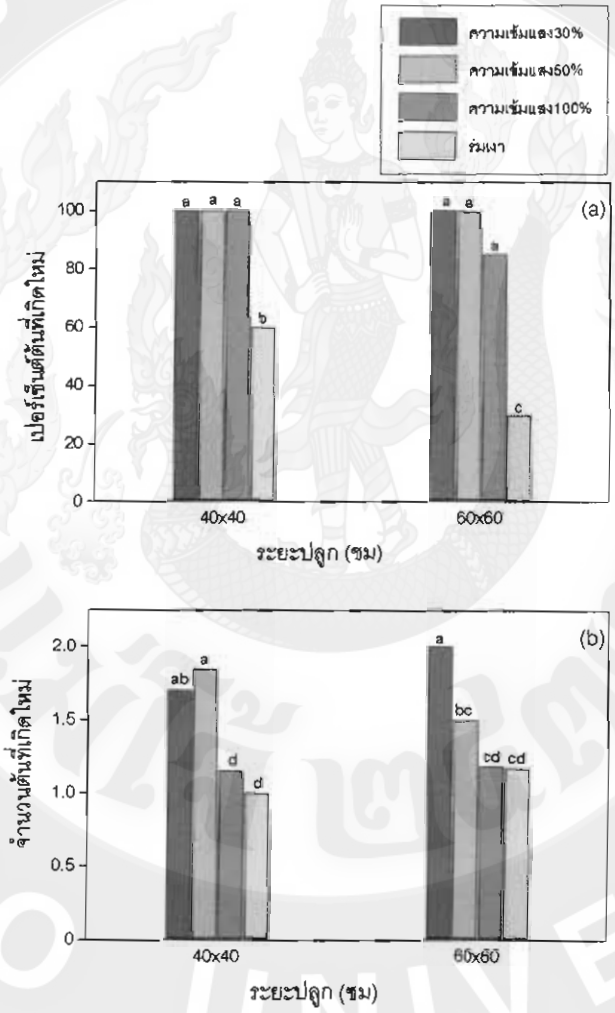


ภาพที่ 39 ผลของระดับความเข้มแสงและระยะปลูกต่อความยาวใบของบุกเนื้อทราย ภายหลังจากปลูกทดสอบนาน 4 เดือน

ภาพที่ 40 การเจริญเติบโตของต้นบุกเนื้อทรายในแปลงปลูกทดสอบ ภายหลังปลูกทดสอบนาน 1.5 เดือน

นอกจากนี้ยังพบว่า ภายหลังจากลงปลูกทดสอบได้ 1 เดือน ต้นบุกมีการเกิดต้นใหม่ขึ้นมา (ภาพที่ 42) โดยระยะปลูกที่ 40x40 เซนติเมตร เกิดต้นได้เร็วกว่าระยะปลูกที่ 60x60 เซนติเมตร (ข้อมูลไม่ได้แสดง) โดยต้นบุกที่ปลูกภายใต้ความเข้มแสงทั้ง 3 ระดับ คือ 30, 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะปลูกทั้ง 2 ระยะ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นใหม่ได้มากที่สุดไม่แตกต่างกัน คือ 85-100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างจากต้นบุกที่ปลูกภายใต้สภาพร่มเงาที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นใหม่ได้น้อยที่สุด โดยเฉพาะที่ระยะปลูก 60x60 เซนติเมตร คือ พบเพียง 30 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น (ภาพที่ 41a)

โดยมีจำนวนต้นที่เกิดใหม่มากที่สุดเฉลี่ย 2 ต้น ที่ระดับความเข้มแสง 30 เปอร์เซ็นต์ ระยะปลูก 60x60 เซนติเมตร รองลงมา คือ ความเข้มแสง 50 และ 30 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะปลูก 40x40 เซนติเมตร มีจำนวนต้นใหม่เฉลี่ย 1.85 และ 1.70 ต้น ตามลำดับ (ภาพที่ 40b) ในขณะที่ความเข้มแสง 100 เปอร์เซ็นต์ และภายใต้สภาพร่มเงามีจำนวนต้นที่เกิดใหม่ที่ระยะปลูก 40x40 เซนติเมตร เฉลี่ย 1.0 และ 1.15 ต้น ตามลำดับ และที่ระยะปลูก 60x60 เซนติเมตร เท่ากับ 1.17 และ 1.44 ต้น ตามลำดับ



ภาพที่ 41 ผลของระดับความเข้มแสงและระยะปลูกต่อการเจริญเติบโตของบุกเนื้อทราย ภายหลังจากปลูกทดสอบนาน 4 เดือน (a) เปอร์เซ็นต์ต้นที่เกิดใหม่ และ (b) จำนวนต้นที่เกิดใหม่

ภาพที่ 42 การเกิดต้นใหม่ของบุกเนื้อทราย

2. การให้ผลผลิต

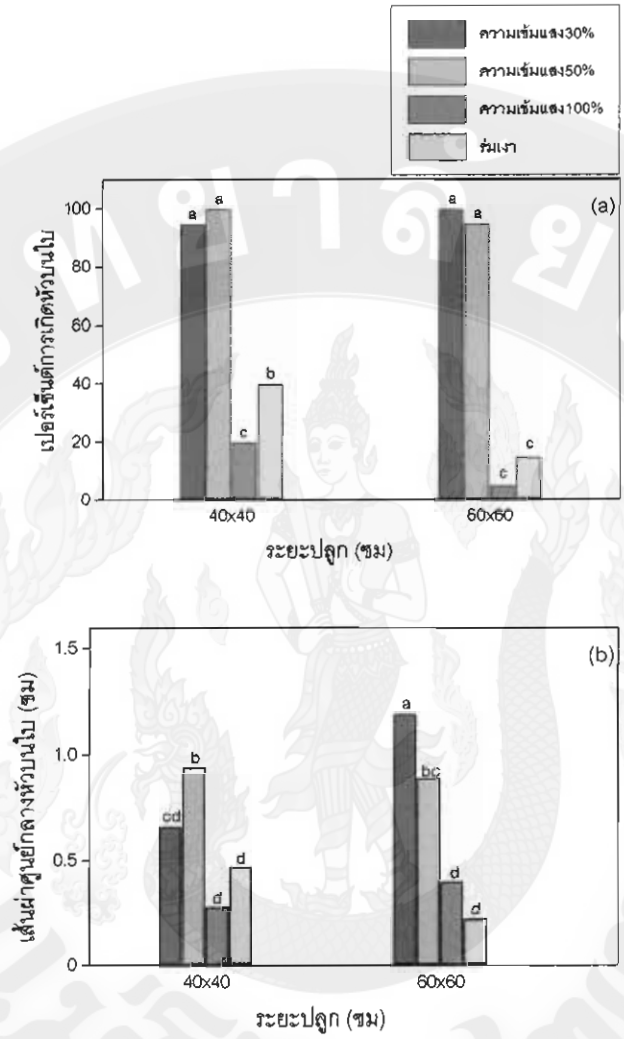
ผลผลิตของบุกเนื้อทรายที่ได้ คือ ส่วนของหัวบนใบและหัวใต้ดิน (ภาพที่ 43 และ 44) ซึ่งจากการปลูกทดสอบระดับความเข้มแสงร่วมกับระยะปลูกต่างๆ จนกระทั่งทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตใช้เวลานานประมาณ 5.5 เดือน ได้ผลดังนี้

2.1 หัวบนใบ

ต้นบุกเนื้อทรายที่ปลูกภายใต้ระดับความเข้มแสง 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับระยะปลูก 40x40 และ 60x60 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดหัวบนใบสูงที่สุดไม่แตกต่างกัน คือ 95-100 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 45a) แต่แตกต่างจากต้นบุกเนื้อทรายที่ปลูกภายใต้ระดับความเข้มแสง 100 เปอร์เซ็นต์ และภายใต้สภาพร่มเงา ทั้ง 2 ระยะปลูก โดยเฉพาะต้นบุกเนื้อทรายที่ปลูกภายใต้ระดับความเข้มแสง 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะปลูก 60x60 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดหัวบนใบน้อยที่สุดเพียง 5 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น ซึ่งระยะเวลาในการเกิดหัวบนใบเริ่มในเดือนกันยายนถึงเดือนตุลาคม โดยในเดือนตุลาคมจะมีเปอร์เซ็นต์การเกิดหัวบนใบสูงที่สุด นอกจากนี้แล้วระดับความเข้มแสง 30 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับระยะปลูก 60x60 เซนติเมตร ยังให้ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวบนใบใหญ่ที่สุดด้วย คือ 1.19 เซนติเมตร รองลงมาคือ ระดับความเข้มแสง 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะปลูก 40x40 และ 60x60 เซนติเมตร ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวบนใบเท่ากับ 0.94 และ 0.89 เซนติเมตร ส่วนการปลูกภายใต้ระดับความเข้มแสง 100 เปอร์เซ็นต์ และภายใต้สภาพร่มเงามีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวบนใบน้อยที่สุดไม่แตกต่างกัน คือ 0.22-0.47 เซนติเมตร (ภาพที่ 45b)

ภาพที่ 43 ส่วนของหัวบนใบและหัวใต้ดินของบุกเนื้อทราย

ภาพที่ 44 ตำแหน่งของการเกิดหัวบนใบ และลักษณะหัวบนใบของบุกเนื้อทรายของต้นบุกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

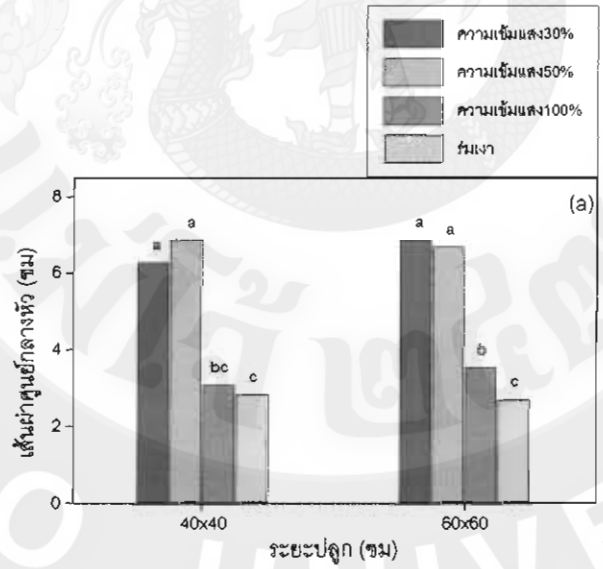


ภาพที่ 45 ผลของระดับความเข้มแสงร่วมกับระยะปลูกต่อการให้ผลผลิตหัวบนใบของต้นบุกเนื้อทราย ภายหลังจากปลูกทดสอบนาน 5.5 เดือน (a) เปอร์เซ็นต์การเกิดหัวบนใบ และ (b) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัวบนใบ

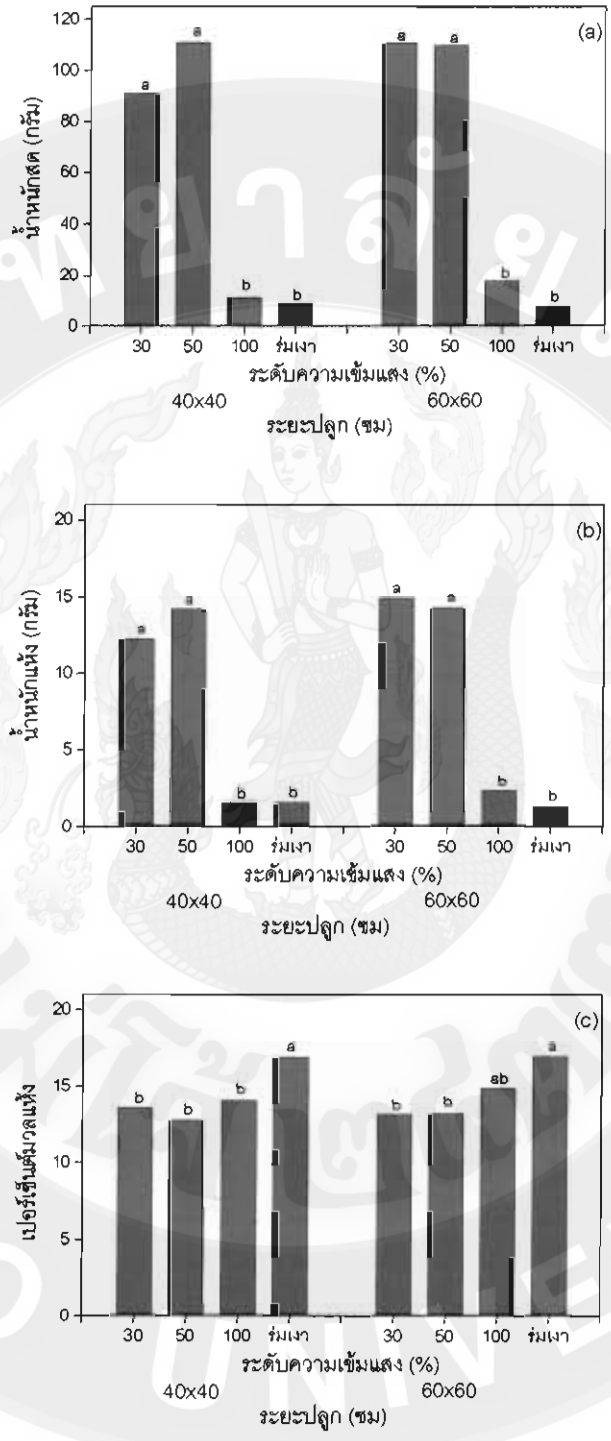
2.2 หัวใต้ดิน

ต้นบุกเนื้อทรายจะมีการสร้างหัวใต้ดินใหม่เพื่อทดแทนหัวเดิม ซึ่งจากการปลูกทดสอบระดับความเข้มแสงร่วมกับระยะปลูก พบว่า ต้นบุกเนื้อทรายที่ปลูกภายใต้ระดับความเข้มแสง 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับระยะปลูก 40x40 และ 60x60 เซนติเมตร มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัวมากที่สุดไม่แตกต่างกัน คือ 6.30-6.90 เซนติเมตร แต่แตกต่างจากต้นบุกเนื้อทรายที่ปลูกภายใต้ระดับความเข้มแสง 100 เปอร์เซ็นต์ และภายใต้สภาพร่มเงาอย่างเห็นได้ชัดที่มีขนาดของหัวใต้ดินเพียง 2.73-3.57 เซนติเมตร เท่านั้น (ภาพที่ 46, 48 และ 49) ซึ่งขนาดของหัวใต้ดินนี้จะมีความสัมพันธ์

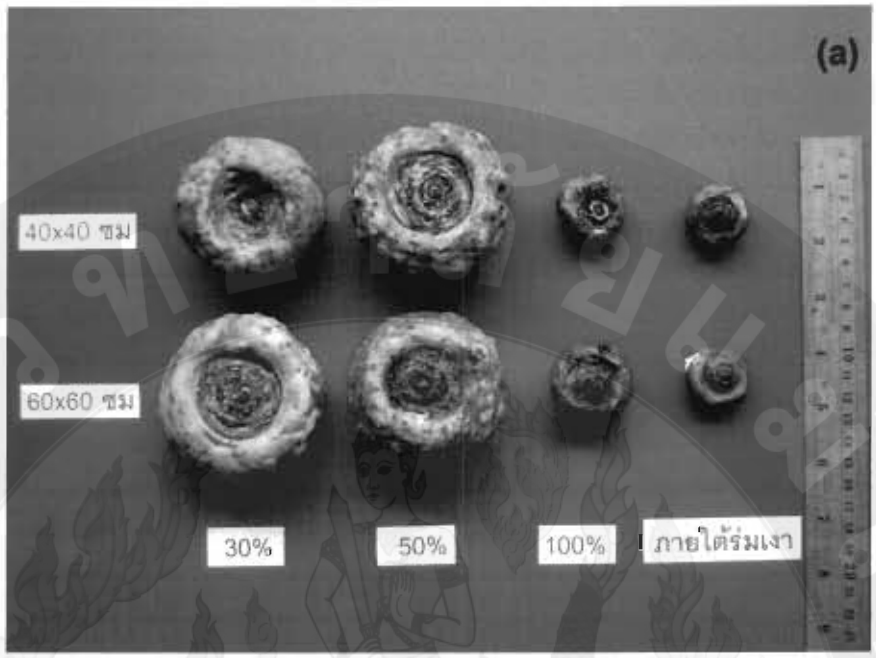
กับน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของหัว กล่าวคือ หัวใต้ดินที่มีขนาดใหญ่จะให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของหัวมาก จากการทดลองนี้ระดับความเข้มแสง 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับระยะปลูก 40x40 และ 60x60 เซนติเมตร ให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของหัวมากที่สุดไม่แตกต่างกันคือ ที่ระดับความเข้มแสง 30 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักสดของหัว 90.84 กรัมต่อหัว ที่ระยะปลูก 40x40 เซนติเมตร และ 110.61 กรัมต่อหัว ที่ระยะปลูก 60x60 เซนติเมตร และระดับความเข้มแสง 50 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำหนักสดของหัว 110.87 กรัมต่อหัว ที่ระยะปลูก 40x40 เซนติเมตร และ 109.47 กรัมต่อหัว ที่ระยะปลูก 60x60 เซนติเมตร และมีน้ำหนักแห้งของหัวเท่ากับ 12.25, 14.90, 14.18 และ 14.29 กรัมต่อหัว ตามลำดับ ส่วนต้นบุกเนื้อทรายที่ปลูกภายใต้ระดับความเข้มแสง 100 เปอร์เซ็นต์ และภายใต้สภาพร่มเงาของทั้ง 2 ระยะปลูก ให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของหัวน้อยที่สุดไม่แตกต่างกัน คือ 7.89-11.79 และ 1.37-2.34 กรัมต่อหัว ตามลำดับ (ภาพที่ 47a-b) แต่อย่างไรก็ตามในด้านเปอร์เซ็นต์มวลแห้งของหัวนั้น ระดับความเข้มแสง 100 เปอร์เซ็นต์ และภายใต้สภาพร่มเงากลับมีเปอร์เซ็นต์สูงที่สุด โดยเฉพาะการปลูกภายใต้สภาพร่มเงาที่มีเปอร์เซ็นต์มวลแห้งของหัวเท่ากับ 16.87 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะปลูก 40x40 เซนติเมตร และ 16.95 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะปลูก 60x60 เซนติเมตร (ภาพที่ 47c)



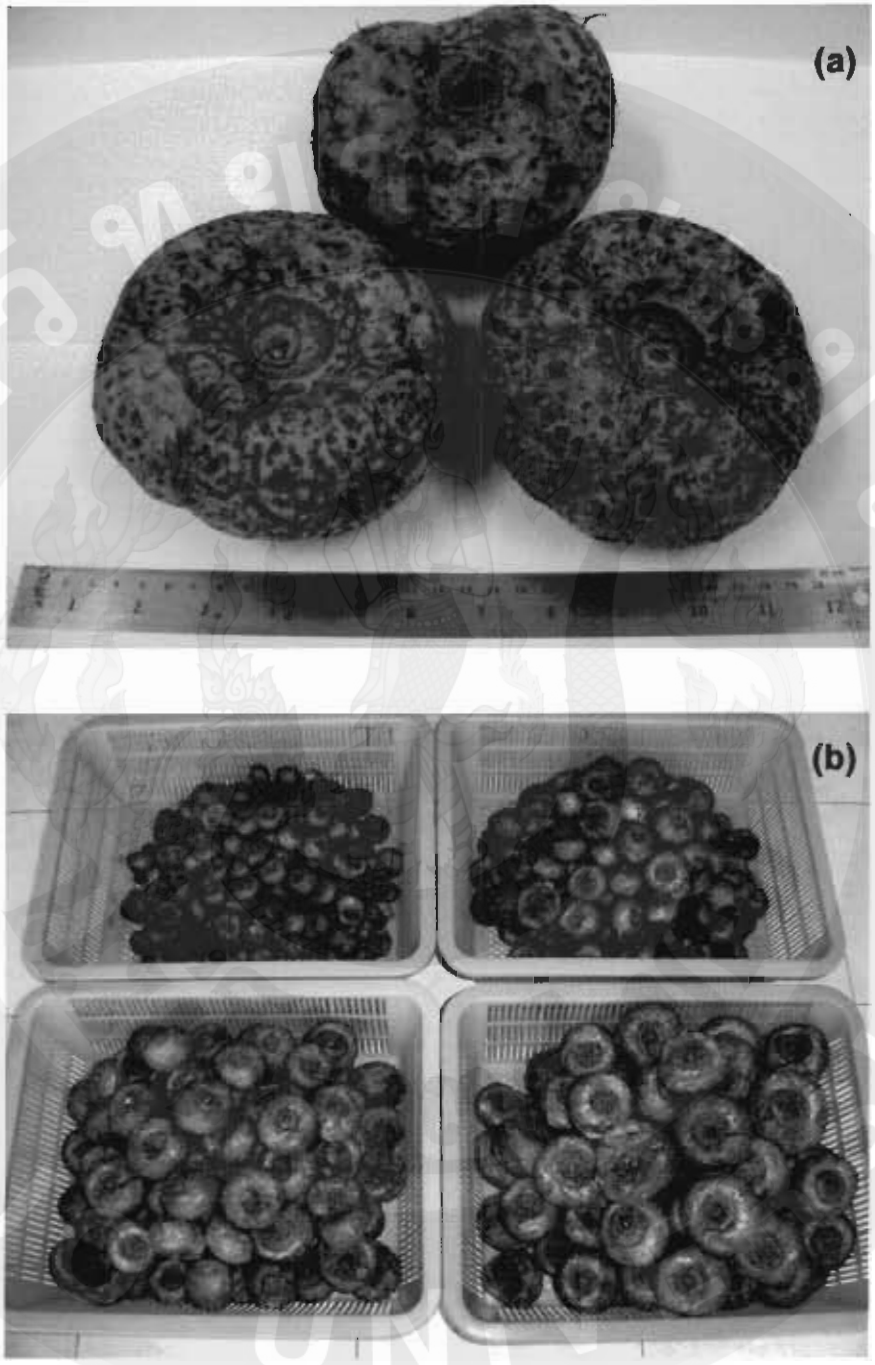
ภาพที่ 46 ผลของระดับความเข้มแสงร่วมกับระยะปลูกต่อขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัวใต้ดินของบุกเนื้อทราย ภายหลังจากปลูกทดสอบนาน 5.5 เดือน



ภาพที่ 47 ผลของระดับความเข้มแสงร่วมกับระยะปลูกต่อการให้ผลผลิตหัวใต้ดินของบุกเนื้อทราย ภายหลังจากปลูกทดสอบนาน 5.5 เดือน (a) น้ำหนักสดหัว (b) น้ำหนักแห้งหัว และ (c) เปอร์เซ็นต์มวลแห้ง



ภาพที่ 48 หัวใต้ดินของบุกเนื้อทรายที่ได้จากการปลูกทดสอบในแปลงปลูกนาน 5.5 เดือน (a) หัวจากระดับความเข้มแสงร่วมกับระยะปลูกต่างๆ และ (b) หัวบุกเนื้อทรายที่ผ่านการทำความสะอาดแล้ว

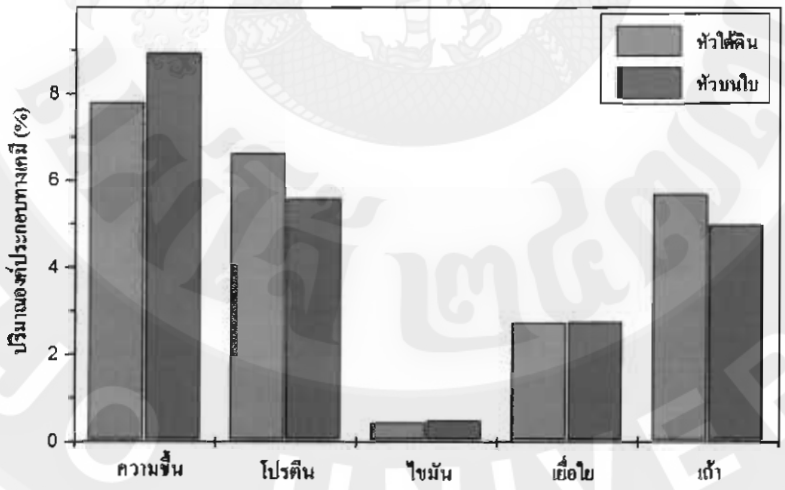


ภาพที่ 49 หัวใต้ดินของบุกเนื้อทรายที่ได้จากการปลูกทดสอบในแปลงปลูกนาน 5.5 เดือน (a) หัวขนาดใหญ่ และ (b) หัวขนาดต่างๆ ที่คัดแยกตามขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเพื่อทำการเก็บรักษา

v วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหัวบุกเนื้อทราย

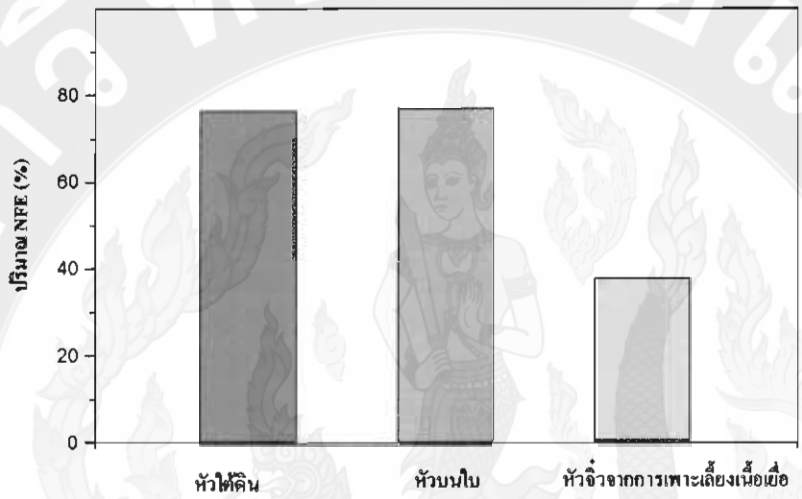
ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหัวบุกเนื้อทรายที่เก็บเกี่ยวได้จากธรรมชาติทั้งจากหัวใต้ดินและหัวบนใบ เพื่อทำการเปรียบเทียบกับหัวจิ๋วที่ผลิตได้จากสภาพปลอดเชื้อในห้องปฏิบัติการ โดยทำการวิเคราะห์หาความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า และ NFE

หัวจากธรรมชาติที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ หัวใต้ดินที่มีขนาดใหญ่ โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 6.8-13.0 เซนติเมตร พบว่า ส่วนใหญ่มีน้ำเป็นองค์ประกอบประมาณ 79.9% (ตารางผนวกที่ 1-3) และหัวบนใบมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัว 1.9-4.3 เซนติเมตร มีน้ำเป็นองค์ประกอบประมาณ 73.2% (ตารางผนวกที่ 4-7) จากภาพที่ 50 เมื่อนำผงบุกแห้งมาวิเคราะห์องค์ประกอบต่างๆ พบว่า หัวใต้ดินมีปริมาณความชื้นเฉลี่ย 7.80% ซึ่งน้อยกว่าหัวบนใบที่มีปริมาณความชื้นเท่ากับ 8.94% แต่กลับพบปริมาณของโปรตีนและเถ้าของหัวใต้ดินมากกว่าหัวบนใบ คือ หัวใต้ดินมีปริมาณโปรตีน 6.64% และเถ้า 5.70% ในขณะที่หัวบนใบมีปริมาณโปรตีน 5.59% และเถ้า 4.98% ส่วนปริมาณของไขมันและเยื่อใย พบว่า ทั้งหัวใต้ดินและหัวบนใบมีค่าใกล้เคียงกัน คือ มีปริมาณไขมันในหัวใต้ดินเท่ากับ 0.44% หัวบนใบ เท่ากับ 0.49% และมีปริมาณเยื่อใยในหัวใต้ดิน เท่ากับ 2.74% และหัวบนใบเท่ากับ 2.75%



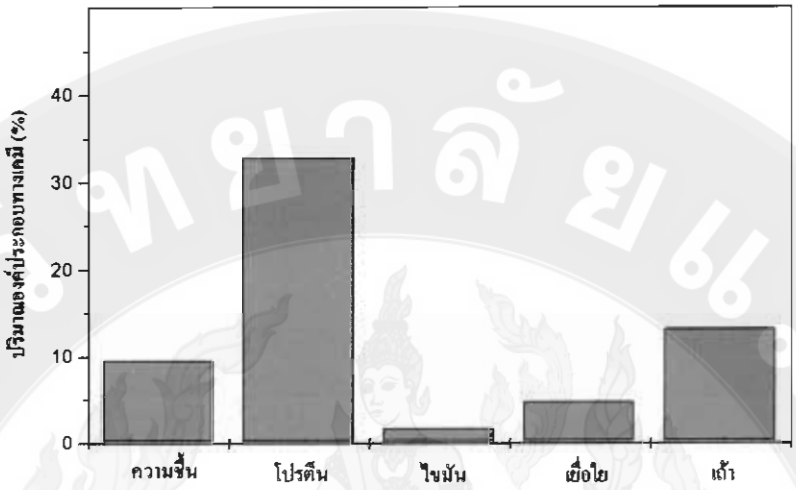
ภาพที่ 50 องค์ประกอบทางเคมีของหัวบุกเนื้อทรายที่ได้จากธรรมชาติ

เมื่อนำผลการทดลองที่ได้มาหาปริมาณ NFE ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรทที่ย่อยได้ง่ายเป็นส่วนใหญ่ ได้แก่ แป้งและน้ำตาลที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ และมีส่วนของเฮมิเซลลูโลสปนอยู่บ้าง ปรากฏว่า หัวใต้ดินและหัวบนใบมีปริมาณ NFE ใกล้เคียงกัน คือ 76.6 และ 77.25% ตามลำดับ (ภาพที่ 51)



ภาพที่ 51 ปริมาณ NFE ของหัวบุกเนื้อทรายที่ได้จากธรรมชาติ

จากภาพที่ 52 นำหัวบุกจิ๋วที่เก็บเกี่ยวได้จากสภาพปลอดเชื้ออายุ 6 เดือน หลังการเพาะเลี้ยงมีขนาดความกว้างหัว 0.6-1.0 เซนติเมตร มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบว่า มีปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และเถ้า มากกว่าหัวบุกที่ได้จากธรรมชาติทั้งหัวใต้ดินและหัวบนใบ โดยมีปริมาณความชื้น 9.58% โปรตีน 32.88% ไขมัน 1.74% เยื่อใย 4.77% และเถ้า 13.1% แต่มีปริมาณ NFE น้อยกว่าหัวจากธรรมชาติประมาณ 1 เท่า คือ 37.93% ในขณะที่หัวจากธรรมชาติทั้งหัวใต้ดินและหัวบนใบ มีปริมาณ NFE เท่ากับ 76.67 และ 77.25% ตามลำดับ (ภาพที่ 51) ซึ่งเป็นที่น่าสังเกตว่าหัวจากสภาพปลอดเชื้อมีปริมาณโปรตีนมากกว่าถึง 5 เท่า ในหัวใต้ดิน และ 6 เท่าในหัวบนใบจากธรรมชาติ



ภาพที่ 52 องค์ประกอบทางเคมีของหัวบุกเนื้อทรายที่ได้จากสภาพปลอดเชื้อ ภายหลังการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรพื้นฐานที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 6 เดือน

วิจารณ์ผลการวิจัย

I ปัจจัยที่เหมาะสมในการผลิตหัวพันธุ์บุกเนื้อทรายขนาดจิ๋วในอาหารแข็งสภาพปลอดเชื้อ

ขนาดของชิ้นส่วนตั้งต้นและปริมาณน้ำตาลซูโครสมีผลต่อการเพิ่มขนาดของหัวบุกเนื้อทรายที่ได้จากการเพาะเลี้ยง กล่าวคือ การใช้ชิ้นส่วนตั้งต้นจากตาขนาดใหญ่ที่มีความสูงยอด 0.8 เซนติเมตร จะให้ขนาดของหัวใหญ่กว่าและการเจริญเติบโตดีกว่าชิ้นส่วนตั้งต้นจากตาขนาดเล็กที่มีความสูงยอด 0.4 เซนติเมตร โดยเฉพาะเมื่อใช้ร่วมกับน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อใช้น้ำตาลซูโครสความเข้มข้นสูง 90 กรัมต่อลิตร ทำให้การเจริญเติบโตน้อยลงและหัวมีขนาดเล็ก ซึ่งตรงกับงานทดลองของ Khuri and Moorby (1995) ที่รายงานว่า การผลิตมันฝรั่งพันธุ์ Estima ในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีเฉพาะน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 400 mM เหมาะสมที่สุดในการใช้เป็นอาหารในการกระตุ้นให้เกิดหัวพันธุ์ขนาดจิ๋ว แต่ถ้าน้ำตาลซูโครสสูงถึง 8% (80 กรัมต่อลิตร) กลับมีผลยับยั้งการเกิดหัวพันธุ์ขนาดจิ๋ว ในขณะที่ Gopal *et al.* (1998) กลับพบว่า น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 60-80 กรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้เกิดหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วในปริมาณที่มาก ซึ่งในการทดลองครั้งนี้เมื่อเติม NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารที่มีซูโครส 30 และ 60 กรัมต่อลิตร ทำให้หัวที่ได้มีขนาดใหญ่ขึ้นถึง 1.46 และ 1.43 เซนติเมตร แต่ถ้าเพิ่มน้ำตาลซูโครสสูงถึง 90 กรัมต่อลิตร หัวที่ได้มีขนาดลดลงเหลือ 1.05 เซนติเมตร และจากรายงานของรังสิมา (2543) ที่พบว่า การใช้ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารกระตุ้นการเกิดรากของบุกเนื้อทรายที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ทำให้ต้นบุกเนื้อทรายเกิดรากได้เร็ว มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูง และมีน้ำหนักสดมากกว่า NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร อาจเป็นเพราะว่ามีการใช้ชิ้นส่วนตั้งต้นที่แตกต่างกันในการทดลองที่ใช้ชิ้นส่วนตั้งต้นเป็นต้นอ่อนที่มีความสูงประมาณ 3 เซนติเมตร แต่ในการทดลองนี้ได้ใช้ชิ้นส่วนตั้งต้นจากตาบุกเนื้อทรายที่มีความสูงยอดเพียง 0.8 เซนติเมตร เท่านั้น ซึ่งอาจทำให้การเจริญเติบโตที่ได้แตกต่างกันส่งผลต่อการพัฒนาของหัว แต่อย่างไรก็ตามยังพบว่า NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ยังทำให้เกิดรากได้เร็ว มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากสูงกว่า NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

การใช้ BA ความเข้มข้น 0.1-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารสูตรพื้นฐานที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อเพาะเลี้ยงบุกโดยใช้ชิ้นส่วนตาจากหัวที่มีความสูงยอด 1.0 เซนติเมตร มีผลทำให้ขนาดและน้ำหนักสดของหัวเพิ่มขึ้นกว่าการไม่ใช้ BA โดยเฉพาะการใช้ BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ให้ขนาดความกว้างและน้ำหนักสดของหัวมากที่สุด เหมาะต่อการผลิตหัวซึ่งตรงกับรายงานของ Jun *et al.* (2001) ที่ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของบุก *Amorphophallus albus* และ *A. konjac* ในอาหาร MS สูตรดัดแปลงที่เติม BA และ NAA ความ

เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ชิ้นส่วนจากไรโซมเกิดแคลลัสได้ดีที่สุดและสามารถพัฒนาเป็นหัวขนาดจิ๋วได้ ซึ่งสามารถใช้เป็นชิ้นส่วนดั้งต้นในการปลูกในสภาพแปลงได้ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Biotechnology Institute of Guizhou (1994) ที่สามารถกระตุ้นให้เกิดหัวพันธุ์ขนาดจิ๋วของบุกทั้ง 2 ชนิดดังกล่าวได้ แต่ใช้ชิ้นส่วนจากหัวพันธุ์ ยอด ก้านใบ และดอก เพาะเลี้ยงในอาหารดัดแปลงสูตร MS ที่มีอัตราส่วนของ BA และ NAA เท่ากับ 2:8 ซึ่งตรงกับการทดลองในครั้งนี้ที่ใช้ชิ้นส่วนจากตาของหัวที่สามารถพัฒนาไปเป็นหัวได้

II การผลิตหัวพันธุ์บุกเนื้อทรายขนาดจิ๋วด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

จากผลการศึกษาการเพาะเลี้ยงบุกเนื้อทรายในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มีการเติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารแข็ง และใน TIB ที่มีการให้อาหารนานครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ จะเห็นได้ว่า ต้นบุกที่ได้จากเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งมีการเกิดเป็นหัวใหญ่ตรงส่วนฐานของลำต้นเห็นได้ชัดเจน แต่ไม่พบยอดใหม่งอกและพบตาขนาดเล็กแตกใหม่เพียงเล็กน้อย ในขณะที่ต้นบุกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใน TIB ทั้งที่มีการให้อาหาร 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน ไม่พบการเกิดหัวตรงส่วนฐานที่ชัดเจนเหมือนกับต้นจากอาหารแข็ง แต่พบการเกิดยอดใหม่และการแตกตาขนาดเล็กจำนวนมาก อีกทั้งยังพบว่าต้นมีรากจำนวนมากและรากยาว ซึ่งอาจเกิดจากการที่ต้นบุกที่เพาะเลี้ยงใน TIB ได้รับอาหารจำนวนมาก จึงทำให้ได้ต้นมีการเจริญเติบโตที่ดีมีรากเกิดใหม่เพื่อใช้หาอาหาร ซึ่งอาจจะทำให้ไม่เกิดหัวหรือไม่เกิดการพักตัวก่อนมีการแตกตาแบบของการเพิ่มปริมาณอย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้อาจเกิดจากผลของการสะสมฮอร์โมนไซโตไคนินในการเพาะเลี้ยงบุกในอาหารระยะเพิ่มปริมาณที่มีเติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ก่อนนำมาเพาะเลี้ยง ซึ่งเมื่อนำชิ้นส่วนดังกล่าวมาเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่ทำให้พืชมีการใช้อาหารได้มากแล้ว อาจจะทำให้พืชมีการแตกตาจำนวนมากขึ้นจากผลของฮอร์โมนไซโตไคนินที่สะสม

ส่วนที่น่าสังเกต คือ การเพาะเลี้ยงต้นบุกใน TIB ทั้งที่มีการให้จำนวน 2 และ 8 ครั้งต่อวัน พบว่า ต้นที่ได้จะเกิดหัวบนใบ แต่ในขณะที่อาหารแข็งไม่พบการเกิดหัวบนใบเลย ทั้งนี้อาจเกิดจากการที่ต้นที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ทำให้พืชได้รับอาหารได้มากพอ จนทำให้เกิดการพัฒนาหัวใหม่ขึ้นมาตรงบริเวณที่เป็นจุดกำเนิดโดยเฉพาะตรงส่วนใบที่เหมือนการเกิดตามธรรมชาติ ซึ่งต้นพืชที่เพาะเลี้ยงใน TIB มีการดูดใช้สารอาหารได้ดีกว่าต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งถึง 1 เท่าตัว ดังนั้นการเกิดหัวบนใบดังกล่าวอาจเกิดจากการที่พืชได้รับสารอาหารที่เพียงพอต่อการสร้างหัวใหม่นั่นเอง

การเพาะเลี้ยงบุกในระบบ TIB เพื่อต้องการให้ได้หัวตรงส่วนฐานด้านล่างมีขนาดใหญ่ แต่กลับพบว่า ผลการวิจัยไม่เป็นไปตามที่คาดหวังแต่กลับพบการแตกต้นที่มากขึ้น มีรากที่หาอาหาร

มากขึ้น ซึ่งเป็นผลดีต่อการขยายพันธุ์บุกในสภาพปลอดเชื้อ ต้นบุกที่ได้จากระบบ TIB นี้สามารถนำเอาไปปลูกเพื่อใช้เป็นต้นแม่พันธุ์ในการผลิตหัวบุกในแปลงได้ดี สามารถควบคุมการผลิตหัวในแปลงให้มีขนาดใกล้เคียงกันได้

ส่วนสำคัญที่ได้จากการเพาะเลี้ยงต้นบุกด้วยระบบ TIB ได้แก่ การเกิดหัวใหม่บนใบ ซึ่งปรากฏการณ์นี้ไม่พบกับต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง อาจกล่าวได้ว่า ระบบ TIB ช่วยชักนำให้เกิดหัวบนใบ ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นเครื่องมือในการศึกษาด้านการพัฒนาของต้นบุกได้ด้วย นอกเหนือจากการชักนำให้เกิดหัวบนใบ

III ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเก็บรักษาหัวบุกเนื้อทรายในสภาพปลอดเชื้อ

จากการเพาะเลี้ยงต้นบุกเดี่ยวที่มีความสูง 4.0 เซนติเมตร มีส่วนฐาน 0.3 เซนติเมตร บนอาหารสูตรพื้นฐานที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลานาน 6, 7 และ 8 เดือน จึงทำการเก็บเกี่ยวหัว พบการเกิดหัวบริเวณฐานของต้นและการขุบตัวของต้นเหมือนในสภาพธรรมชาติ แต่ไม่มีการพักตัวเกิดขึ้นโดยมีการแทงยอดใหม่ขึ้นมาแทนที่พร้อมทั้งมีรากใหม่ด้วย ซึ่งอาจเป็นเพราะสภาพแวดล้อมในการเพาะเลี้ยงมีความเหมาะสม มีการให้แสงและอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส และเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้นซึ่งมีน้ำและธาตุอาหารเป็นองค์ประกอบหลัก จึงทำให้สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ จากนั้นจะมีการเกิดหัวใหม่ขึ้นมาบนหัวเดิม ทำให้รูปทรงของหัวบิดเบี้ยว ยืดยาว และหัวไม่กลมเหมือนหัวที่ได้จากต้นที่ขุบตัวในครั้งแรก และหัวที่ได้จากธรรมชาติ เนื่องจากไม่มีการใช้อาหารจากส่วนของหัวเดิมจึงทำให้หัวมีขนาดยาวขึ้น แต่เมื่อเพาะเลี้ยงไปนานขึ้นธาตุอาหารที่เพาะเลี้ยงในขวดอาจหมด จึงทำให้หัวที่ได้จากการเพาะเลี้ยงนาน 6, 7 และ 8 เดือน ไม่มีความแตกต่างกัน โดยพบว่า มีเปอร์เซ็นต์หัวขนาด 0.6-1.0 เซนติเมตร มากที่สุดเช่นเดียวกัน ในขณะเดียวกันก็มีหัวขนาด 1.6-2.0 เซนติเมตร น้อยที่สุดเหมือนกัน

นอกจากนี้ยังมีขนาดความกว้างและความยาวของหัว รวมถึงน้ำหนักสดก็ไม่แตกต่างกันด้วย ดังนั้นจึงไม่มีความจำเป็นที่จะเพาะเลี้ยงต้นบุกเป็นเวลานานๆ เนื่องจากเมื่อเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนบุกโดยใช้ตาขนาดใหญ่ที่มีความยาวยอด 0.8 เซนติเมตร บนอาหารสูตรพื้นฐานที่มีน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร แต่เพาะเลี้ยงนาน 3 เดือน พบว่า มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัวไม่แตกต่างกัน คือ 1.03 เซนติเมตร (การทดลองที่ 1.3) ในขณะที่การเพาะเลี้ยงนาน 6, 7 และ 8 เดือน มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัว (ความกว้างหัว) 0.87-0.91 เซนติเมตร

แต่อย่างไรก็ตาม พบว่า การเพาะเลี้ยงต้นบุกเพื่อผลิตหัวเป็นเวลานาน สามารถเพิ่มขนาดความยาวของหัวได้ เป็นการเก็บรักษาหัวไว้ในสภาพปลอดเชื้อโดยไม่สูญเสียความชื้น แต่ควรมี

การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวหัวด้วย ซึ่งอาจจะมีผลต่อการนำไปปลูกในสภาพแปลงปลูกหากหัวมีขนาดความยาวเพิ่มขึ้น

IV การปลูกทดสอบต้นบุกเนื้อทรายในแปลงปลูก

จากการนำต้นกล้าบุกเนื้อทรายอายุ 3 เดือน จากโรงเรือนเพาะเลี้ยงต้นกล้าอ่อนลงปลูกทดสอบระดับความเข้มแสง 4 ระดับ คือ 30, 50, 100% และภายใต้สภาพร่มเงา ร่วมกับระยะปลูก 2 ระยะ คือ 40x40 และ 60x60 เซนติเมตร เป็นเวลานาน 5.5 เดือน พบว่า ต้นบุกเนื้อทรายที่ปลูกภายใต้ความเข้มแสง 30 และ 50% ร่วมกับระยะปลูก 40x40 และ 60x60 เซนติเมตร มีการเจริญเติบโตทางลำต้นและให้ผลผลิตหัวใต้ดินและหัวบนใบดีกว่าต้นบุกที่ปลูกภายใต้ความเข้มแสง 100% และภายใต้สภาพร่มเงา เนื่องจากบุกเป็นพืชที่ชอบร่มเงา ส่วนใหญ่ขึ้นอยู่ในป่าธรรมชาติใต้ร่มไม้ใหญ่ซึ่งมีแสงแดดรำไร มีอุณหภูมิพอเหมาะ 25-35 องศาเซลเซียส ไม่ชอบลมพัดแรง เพราะเป็นพืชที่มีลำต้นหรือกิ่งก้านอวบน้ำ ถ้าถูกแสงแดดโดยตรงจะทำให้ใบไหม้และเหี่ยวเฉาได้ง่าย (ทิพวัลย์, 2537) ดังนั้นการนำบุกไปปลูกภายใต้สภาพแสง 100% จึงทำให้บุกเจริญเติบโตได้น้อย ส่วนบุกที่ปลูกภายใต้สภาพร่มเงาบริเวณพื้นที่ที่ทำการปลูกทดสอบ ภายหลังลงปลูกได้ไม่นานต้นไม้ใหญ่เริ่มผลัดใบ ทำให้อากาศค่อนข้างร้อน แห้งแล้ง และมีแสงแดดส่องมากขึ้น ซึ่งบุกเป็นพืชที่ชอบความชุ่มชื้นจึงทำให้ต้นยุบตัวเร็วขึ้นภายหลังจากต้นไม้ใหญ่ผลัดใบ ซึ่งเหมือนกับบุกตามธรรมชาติที่เริ่มเข้าสู่ระยะพักตัวในช่วงนี้ จึงทำให้หัวที่เก็บเกี่ยวได้มีขนาดเล็กกว่าต้นที่ปลูกภายใต้ความเข้มแสง 30 และ 50% ซึ่งทิพวัลย์ (2537) ได้แนะนำว่า บุกเป็นพืชที่ปลูกเลี้ยงได้ไม่ยาก สามารถปลูกในสภาพแปลงได้ แต่ควรมีตาข่ายพรางแสงประมาณ 50% หรือปลูกแซมในพืชหลักที่ให้ร่มเงา และควรมีการดูแลรักษาโดยให้ปุ๋ยอินทรีย์ มีการป้องกันกำจัดวัชพืชและศัตรูพืช และมีการให้น้ำอย่างสม่ำเสมอในช่วงที่ฝนทิ้งช่วง

ส่วนการทดสอบระยะปลูก 40x40 และ 60x60 เซนติเมตร ต้นบุกที่ปลูกภายใต้ระดับความเข้มแสง 30 และ 50% มีการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตไม่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงควรปลูกบุกโดยใช้ระยะปลูก 40x40 เซนติเมตร จะดีที่สุด เนื่องจากได้จำนวนต้นต่อพื้นที่มากขึ้น ซึ่งจะทำให้ได้ผลผลิตมากขึ้นด้วย

V วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหัวพันธุ์บุกเนื้อทราย

ผลจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหัวใต้ดินและหัวบนใบของบุกเนื้อทรายที่ได้จากธรรมชาติ จะเห็นได้ว่าหัวใต้ดินมีปริมาณความชื้นน้อยกว่าหัวบนใบ แต่มีปริมาณโปรตีนและเถ้ามากกว่า และมีปริมาณไขมัน เยื่อใย และ NFE ใกล้เคียงกัน และเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ

วรางคณา และคณะ (2545) ที่ได้ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผงบุกเนื้อทรายที่ได้จากหัวใต้ดินและผงบุกการค้า (บริษัท สหชลผลพืช จำกัด) พบว่า ผงบุกจากหัวใต้ดินและหัวบนใบจากงานทดลองครั้งนี้มีปริมาณความชื้นและมีปริมาณไขมันน้อยกว่าเช่นเดียวกัน ซึ่งเป็นผลดีในการนำไปเป็นอาหารสุขภาพควบคุมน้ำหนัก แต่มีปริมาณโปรตีนมากกว่าบุกการค้า ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าในการสกัดผงบุกให้บริสุทธิ์โดยวิธีทางการค้าทำให้ปริมาณโปรตีนในผงบุกลดลงไปมาก และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณเถ้า พบว่า หัวบนใบมีค่าใกล้เคียงกับงานทดลองของวรางคณา และคณะ (2545) แต่หัวใต้ดินกลับพบปริมาณเถ้ามากกว่า ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าหัวบุกใต้ดินที่ใช้มีส่วนของเปลือกปนอยู่ด้วยเพราะไม่ได้มีการปอกเปลือกออก แต่มีการล้างทำความสะอาดหลายครั้ง ทำให้ปริมาณเถ้ามีมากเมื่อเปรียบเทียบกับหัวบนใบที่มีปริมาณเถ้าน้อยกว่า เนื่องจากผิวเปลือกของหัวจะเรียบเป็นมัน ไม่ขรุขระเหมือนหัวใต้ดิน แต่อย่างไรก็ตาม พบว่า ปริมาณเยื่อใย และ NFE มีค่าใกล้เคียงกัน

เมื่อนำผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหัวใต้ดินและหัวบนใบจากธรรมชาติเปรียบเทียบกับหัวบุกจิ๋วที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ จะเห็นได้ว่า หัวบุกจิ๋วจากสภาพปลอดเชื้อมีปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย และเถ้ามากกว่าหัวบุกจากธรรมชาติทั้งหัวใต้ดินและหัวบนใบ โดยมีปริมาณโปรตีนมากถึง 5 เท่าของหัวใต้ดิน และ 6 เท่าของหัวบนใบ มีปริมาณไขมันมากกว่าประมาณ 3 เท่า เยื่อใยมากกว่าประมาณ 2% และเถ้ามากกว่า 7.4% ในหัวใต้ดิน และ 8.12% ในหัวบนใบ แต่ในขณะเดียวกันกลับมีปริมาณของ NFE น้อยกว่าประมาณ 1 เท่าของหัวจากธรรมชาติ ทั้งนี้อาจเนื่องจากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อนั้นใช้อาหารพื้นฐานสูตร MS (1962) ที่มีส่วนประกอบธาตุอาหารไนโตรเจนอยู่ในปริมาณที่มากกว่าธาตุอาหารอื่นๆ ซึ่งพืชสามารถนำไปใช้ได้ง่าย จึงทำให้ปริมาณโปรตีนสูงกว่าในสภาพธรรมชาติ รวมทั้งการที่มีน้ำในอาหารค่อนข้างมากมีการเพาะเลี้ยงในขวดที่มีความชื้นเกือบ 100% จึงทำให้ปริมาณความชื้นที่ได้มีมากกว่าด้วย และจากการที่มีปริมาณของเยื่อใยมากนั้น อาจเป็นเพราะต้องใช้หัวบุกจิ๋วจำนวนมากจึงจะสามารถสกัดผงบุกได้ในปริมาณที่มากพอเพื่อนำไปวิเคราะห์ จึงมีส่วนประกอบของเปลือกหัวมากกว่าหัวที่มีขนาดใหญ่ที่มีเนื้อข้างในหัวมาก ซึ่งส่งผลต่อปริมาณเถ้าให้มากไปด้วย ประกอบกับการที่มีสารอนินทรีย์มากในส่วนประกอบอาหาร ดังนั้นปริมาณเถ้าจึงมากกว่าหัวในธรรมชาติ

นอกจากนี้ยังพบปริมาณ NFE หรือคาร์โบไฮเดรทที่ย่อยได้ง่าย ส่วนใหญ่ได้แก่ แป้งและน้ำตาล มีน้อยกว่าหัวจากธรรมชาติประมาณ 1 เท่า อาจเนื่องจากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อพืชมีการสังเคราะห์แสงได้น้อย การเจริญเติบโตส่วนใหญ่ใช้น้ำตาลซูโครสจากสูตรอาหารที่ทำการเพาะเลี้ยง จึงทำให้การสะสมแป้งและน้ำตาลในหัวมีน้อย ซึ่งส่งผลให้ปริมาณ NFE ในหัวจิ๋วจากสภาพปลอดเชื้อมีน้อยกว่าหัวจากธรรมชาติด้วย

สรุปผลการวิจัย

I ปัจจัยที่เหมาะสมในการผลิตหัวพันธุ์บุกเนื้อทรายขนาดจิ๋วในอาหารแข็งสภาพปลอดเชื้อ

การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการผลิตหัวพันธุ์บุกเนื้อทรายขนาดจิ๋วในสภาพปลอดเชื้อ โดยทำการทดสอบผลของขนาดชิ้นส่วนตั้งต้นร่วมกับน้ำตาลซูโครส ผลของน้ำตาลซูโครสร่วมกับ NAA และผลของ BA ต่อการเพิ่มขนาดของหัวพันธุ์บุกเนื้อทราย สามารถสรุปผลได้ ดังนี้

1. ชิ้นส่วนตั้งต้นควรใช้ชิ้นส่วนจากตาที่มีความสูงยอด 0.8 เซนติเมตร ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มขนาดของหัวได้มากที่สุด คือ 1.03 เซนติเมตร และมีการเจริญเติบโตทางลำต้นดีที่สุด
2. การใช้น้ำตาลซูโครส 30 และ 60 กรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้หัวมีขนาดใหญ่ที่สุด ไม่แตกต่างกัน คือ 1.46 และ 1.43 เซนติเมตร ตามลำดับ
3. ความเข้มข้นของ BA ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มขนาดของหัว คือ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งทำให้ขนาดความกว้างของหัวมากที่สุด 1.38 เซนติเมตร และมีน้ำหนักสดของหัวมากที่สุด คือ 1.37 กรัม

II การผลิตหัวพันธุ์บุกเนื้อทรายขนาดจิ๋วด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว

ในการศึกษาการเพาะเลี้ยงบุกเนื้อทรายในอาหารสูตร MS ดัดแปลง (1962) ที่มี NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อการชักนำการเกิดหัวบุก ในระบบการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารแข็ง เปรียบเทียบกับการเพาะเลี้ยงใน TIB ที่มีการให้อาหารนานครั้งละ 5 นาที จำนวน 2 หรือ 8 ครั้งต่อวัน จะเห็นได้ว่าในการเพาะเลี้ยงบุกเนื้อทรายในอาหารแข็งสามารถชักนำการเกิดหัวบุกที่กลมชัดเจน แต่ไม่มีการงอกของยอดใหม่และมีการแตกตาขนาดเล็กเพียงเล็กน้อยในอาหารสูตรดังกล่าว ส่วนบุกที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ทั้งที่มีการให้อาหาร 2 และ 8 ครั้งต่อวัน ไม่พบการฟอร์มของหัวที่กลมชัดเจน แต่หัวที่ได้มีขนาดใหญ่ และพบการแตกยอดใหม่และมีการแตกตาขนาดเล็กเป็นจำนวนมาก และยังเกิดหัวบนใบ อีกทั้งพบว่ามีรากจำนวนมากและเป็นรากที่ยาวโดยเฉพาะการเพาะเลี้ยงใน TIB ที่มีการให้อาหาร 8 ครั้งต่อวัน ทำให้พืชได้รับสารอาหารในปริมาณที่มากพอจึงเห็นการแตกตาจำนวนมากในลักษณะของการเพิ่มปริมาณได้ชัดเจน

III ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเก็บรักษาหัวพันธุ์บุกเนื้อทรายในสภาพปลอดเชื้อ

ทำการเพาะเลี้ยงต้นบุกเนื้อทรายขนาดความสูง 4.0 เซนติเมตร มีส่วนของฐาน 0.3 เซนติเมตร บนอาหารสูตรพื้นฐานที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6, 7 และ 8 เดือน พบการเกิดหัวของต้นบริเวณส่วนฐาน จากนั้นต้นจะยุบตัวและแทงต้นใหม่ขึ้นมาแทนต้นเดิม โดยไม่มีการพักตัวของหัว และมีการเกิดหัวใหม่บนหัวเดิม ทำให้หัวมีความยาวเพิ่มขึ้นและเสียรูปทรง และเมื่อทำการเก็บเกี่ยวหัว พบว่า ให้ผลไม่แตกต่างกัน คือ มีขนาดความกว้างหัว 0.87-0.91 เซนติเมตร ความยาวหัว 1.52-1.56 เซนติเมตร และน้ำหนักสดหัว 0.90-0.97 กรัมต่อหัว จากนั้นได้นำเอาหัวอายุ 6 เดือน มาหาน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และเปอร์เซ็นต์มวลแห้ง พบว่า มีน้ำหนักสด 0.97 กรัมต่อหัว น้ำหนักแห้ง 0.07 กรัมต่อหัว และมีเปอร์เซ็นต์มวลแห้ง 7.19% ซึ่งน้อยกว่าหัวที่ได้จากการปลูกทดสอบ 1.7-2.4 เท่า

เมื่อคัดขนาดความกว้างหัวจากหัวทั้งหมดที่ได้จากการทดลอง แบ่งหัวได้ 4 กลุ่ม โดยต้นบุกที่เพาะเลี้ยง นาน 6, 7 และ 8 เดือน ให้ขนาดความกว้างหัวในทิศทางเดียวกัน คือ มีขนาดหัวอยู่ในช่วง 0.6-1.0 เซนติเมตร มากที่สุด (76.2, 72.6 และ 69.1% ตามลำดับ) รองลงมา คือ 1.1-1.5 เซนติเมตร น้อยกว่า 0.5 เซนติเมตร และ 1.6-2.0 เซนติเมตร ตามลำดับ

IV การปลูกทดสอบต้นบุกเนื้อทรายในแปลงปลูก

จากการนำต้นบุกเนื้อทรายอายุ 3 เดือน ที่ได้จากโรงเรือนเพาะเลี้ยงต้นกล้าอ่อน ลงปลูกทดสอบในแปลงปลูกที่มีระดับความเข้มแสง 4 ระดับ คือ 30, 50, 100% และภายใต้สภาพร่มเงาร่วมกับระยะปลูก 2 ระยะ คือ 40x40 และ 60x60 เซนติเมตร เป็นเวลานาน 5.5 เดือน สรุปได้ดังนี้

1. การเจริญเติบโตทางลำต้น ต้นบุกเนื้อทรายที่ปลูกภายใต้ความเข้มแสง 30 และ 50% ร่วมกับระยะปลูก 40x40 และ 60x60 เซนติเมตร มีการเจริญเติบโตทางลำต้นด้านความยาวใบหลัก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางใบหลัก ขนาดทรงพุ่ม ความยาวใบ และเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นใหม่ใกล้เคียงกัน และเจริญเติบโตได้ดีกว่าต้นที่ปลูกภายใต้ความเข้มแสง 100% และภายใต้สภาพร่มเงา ทั้ง 2 ระยะปลูกอย่างชัดเจน โดยเฉพาะต้นที่ปลูกภายใต้สภาพร่มเงา พบว่า ต้นมีการเจริญเติบโตหลังย้ายปลูกเพียง 1 เดือนเท่านั้น ต้นก็ยุบตัว

2. การให้ผลผลิต

2.1 หัวบนใบ ต้นบุกที่ปลูกภายใต้ความเข้มแสง 30 และ 50% ร่วมกับระยะปลูก 40x40 และ 60x60 เซนติเมตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดหัวบนใบไม่แตกต่างกัน (95-100%) แต่ที่ระดับความเข้มแสง 30% ร่วมกับระยะปลูก 40x40 เซนติเมตร ให้ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัวใหญ่กว่า (1.19 เซนติเมตร) ซึ่งแตกต่างจากต้นที่ปลูกภายใต้ความเข้มแสง 100% และภายใต้สภาพร่มเงา ทั้ง 2 ระยะปลูก ที่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดหัวบนใบและขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัวน้อยที่สุด

2.2 หัวใต้ดิน ต้นบุกที่ปลูกภายใต้ความเข้มแสง 30 และ 50% ร่วมกับระยะปลูก 40x40 และ 60x60 เซนติเมตร มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางหัวใต้ดิน (6.30-6.90 เซนติเมตร) น้ำหนักสดหัว (90.84-110.87 กรัม) น้ำหนักแห้งหัว (12.25-14.90 กรัม) และเปอร์เซ็นต์มวลแห้งของหัว (12.74-13.59 กรัม) ใกล้เคียงกัน และแตกต่างจากต้นที่ปลูกภายใต้ความเข้มแสง 100% และภายใต้สภาพร่มเงา ทั้ง 2 ระยะปลูก ที่ให้ผลผลิตหัวใต้ดินน้อยที่สุด แต่อย่างไรก็ตามกลับพบว่า มีเปอร์เซ็นต์มวลแห้งของหัวมากกว่า โดยเฉพาะต้นที่ปลูกภายใต้สภาพร่มเงาที่มีเปอร์เซ็นต์มวลแห้งของหัวสูงที่สุด (16.87-16.95%)

ดังนั้นจากการปลูกทดสอบต้นบุกเนื้อทรายภายใต้ความเข้มแสงและระยะปลูกต่างๆ สามารถสรุปได้ว่า ควรปลูกต้นบุกเนื้อทรายภายใต้สภาพความเข้มแสง 50% ที่ระยะปลูก 40x40 เซนติเมตร ดีที่สุด ซึ่งเป็นการลดต้นทุนการผลิต และเพิ่มจำนวนต้นต่อพื้นที่การผลิตมากขึ้น ทำให้ได้ผลผลิตต่อไร่เพิ่มขึ้น

V วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหัวพันธุ์บุกเนื้อทราย

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของหัวบุกใต้ดินและหัวบนใบของบุกเนื้อทรายที่ได้จากธรรมชาติ สรุปได้ว่า หัวบนใบมีปริมาณความชื้นมากกว่าหัวใต้ดิน 1.14% (8.94 และ7.80% ตามลำดับ) ในขณะที่หัวใต้ดินมีปริมาณโปรตีนและเถ้ามากกว่าหัวบนใบ 1.03 และ 0.92% ตามลำดับ (ปริมาณโปรตีนหัวใต้ดิน เท่ากับ 6.64% และหัวบนใบ เท่ากับ 5.59%; ปริมาณเถ้าของหัวใต้ดิน เท่ากับ 5.70% และหัวบนใบ เท่ากับ 4.98%) ส่วนปริมาณไขมัน เยื่อใย และ NFE ทั้งหัวใต้ดินและหัวบนใบมีค่าใกล้เคียงกัน (ปริมาณไขมัน เท่ากับ 0.44-0.49%; ปริมาณเยื่อใย เท่ากับ 2.74-2.75% และปริมาณ NFE เท่ากับ 76.67-77.25%)

และเมื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของหัวบุกจิ๋วที่ผลิตได้จากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อกับหัวใต้ดินและหัวบนใบที่ได้จากธรรมชาติ จะเห็นได้ว่า หัวบุกจิ๋วที่ได้จากสภาพปลอดเชื้อมีปริมาณความชื้น (9.58%) โปรตีน (32.88%) ไขมัน (1.74%) เยื่อใย (4.77%) และเถ้า (13.1%) มากกว่าหัวบุกจากธรรมชาติทั้งจากหัวใต้ดินและหัวบนใบ โดยเฉพาะปริมาณโปรตีนมีมากถึงประมาณ 5 เท่าในหัวใต้ดิน และ 6 เท่าในหัวบนใบ มีปริมาณไขมันมากกว่าประมาณ 3 เท่า เยื่อใยมากกว่าประมาณ 2% และเถ้ามากกว่า 7.4% ในหัวใต้ดิน และ 8.12% ในหัวบนใบ แต่ในขณะเดียวกันกลับมีปริมาณของ NFE (37.93%) น้อยกว่าหัวจากธรรมชาติประมาณ 1 เท่า