

ผลของสูตรอาหารและการผ่าหน่อต่อการพัฒนาของปลายยอดกล้วยน้ำว้า ในสภาพปลอดเชื้อ

Effect of Culture Media and Bud Splitting on Development of Banana (*Musa* sp. cv. Namwa (ABB)) from *In Vitro* Shoot Bud Culture

ยุพาภรณ์ วิริยะนันท์^{1*} เพชรพิกุล วังมูล² และ สุภาวดี รามสูตร³
Yupaporn Wiriyananont^{1*}, Petchpikul Vangmul² and Supawadee Ramasoot³

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสูตรอาหารและการผ่าแบ่งหน่อต่อการเพิ่มปริมาณยอดรวมของกล้วยน้ำว้าในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้ชิ้นส่วนปลายยอดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำยอดรวม พบว่าอาหารสูตร Murashige และ Skoog (MS) เติม N⁶-benzyladenine (BA) เข้มข้น 1 หรือ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครสร้อยละ 3.00 ผงวุ้นร้อยละ 0.75 และผงถ่านร้อยละ 0.10 ให้จำนวนยอดรวมเฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อพิจารณาถึงการผ่าแบ่งชิ้นส่วนพืช พบว่า การตัดยอดและผ่าครึ่งตามยาวออกเป็น 2 ส่วน ให้การสร้างยอดรวมร้อยละ 100 จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.30 ยอดต่อต้น ประกอบด้วยจำนวนใบเฉลี่ย 2.30 ใบต่อต้น และความสูงต้นเฉลี่ย 3.22 เซนติเมตร เมื่อตัดยอดไปชักนำราก พบว่า อาหารสูตร ½ MS เติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 3.00 ผงวุ้นร้อยละ 0.75 และผงถ่านร้อยละ 0.10 ให้สร้างราก สูงสุดร้อยละ 96.00 ให้จำนวนราก 5 รากต่อชิ้นส่วน ซึ่งต้นกล้วยน้ำว้าที่ได้ มีลักษณะลำต้นปกติ ยืดยาว ใบมีสีเขียวเข้ม รากเป็นรากแขนง เกิดขึ้นบริเวณโคนลำต้น จากการศึกษา การตัดยอดแล้วผ่าตามยาวออกเป็น 2 ส่วน แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำยอดรวม เป็นวิธีที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์กล้วยน้ำว้าในสภาพปลอดเชื้อต่อไป

คำสำคัญ: กล้วยน้ำว้า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การผ่าหน่อ สูตรอาหาร

¹ หลักสูตรเกษตรศาสตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา

² หลักสูตรเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา

³ หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

* Corresponding author e-mail: sirisomy@gmail.com

Received: 21 July 2018, Revised: 17 January 2019, Accepted: 26 April 2019

Abstract

The aim of this study was to determine the effect of explant preparations on shoot proliferation of banana (*Musa* sp. cv. Namwa) *in vitro*. Multiple shoots formation was not significant difference after culturing on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 1 and 3 mg/l N⁶-benzyladenine (BA) and 0.10% activated charcoal. Cutting pseudostem and median longitudinal section the shoot gave the highest percentage of multiple shoot induction at 100 and average number of shoots at 2.30 shoots/explant. The new shoot consisted of 2.30 leaves/shoot with 3.22 cm of plant height. In case of root induction, ½ MS with 3.00% sucrose, 0.75% agar and 0.10% activated charcoal gave the highest result in root induction at 96 (5 roots/explants). *In vitro* normal shoots with dark green leaves and white lateral root around stem were obtained from this study. Therefore, cutting pseudostem and in median longitudinal section of shoot was suitable for mass propagation and breeding of banana.

Keywords: *Musa* sp. cv. Namwa, Micropropagation, Bud splitting, Culture media

บทนำ

กล้วยน้ำว้า *Musa* sp. cv. Namwa (ABB) เป็นไม้ผลที่มีคุณประโยชน์มากมาย สามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลายรูปแบบ โดยทั่วไป กล้วยน้ำว้าขยายพันธุ์โดยใช้หน่อ จากหน่อพันธุ์หนึ่งหน่อเมื่อนำไปเพาะก็จะสามารถผลิตต้นกล้วยได้หนึ่งต้น อีกวิธีหนึ่งที่สามารถเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์ได้จำนวนมาก ปลอดภัย และมีความสม่ำเสมอของต้น คือการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ปัจจุบันพบว่าหลายประเทศ เช่น ฟิลิปปินส์ ไต้หวัน ออสเตรเลีย และคอซตาริกา ได้นำเอาวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในการขยายพันธุ์กล้วยในเชิงการค้ามากขึ้น (กัลยาณี และคณะ, 2558) นอกจากนี้เกษตรกรรวมทั้งนักวิจัย ได้พยายามพัฒนาเทคนิค เพื่อเพิ่มจำนวนต้นพันธุ์กล้วยให้ได้จำนวนมากขึ้น ซึ่งเทคนิคหนึ่งที่ได้รับคานวณนิยมคือการผ่าหน่อ เพราะในการผ่าหน่อกล้วยนั้นทำให้ได้ต้นพันธุ์กล้วยมากกว่าหนึ่งต้นจากหนึ่งหน่อ และประหยัดค่าใช้จ่าย แต่อย่างไรก็ตาม การขยายพันธุ์กล้วยในสภาพธรรมชาตินั้น เกษตรกรมักประสบปัญหาเรื่องโรคและแมลงรบกวน เนื่องจากหน่อพันธุ์ที่นำมาขึ้นอาจมีโรคหรือแมลงติดมาด้วย หากนำมาปลูกแล้วเกิดการแพร่ระบาดก็จะยิ่งสร้างความเสียหายเพิ่มมากขึ้น จากปัญหาดังกล่าว การผลิตต้นพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถแก้ปัญหานี้ได้ ผลสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยขึ้นอยู่กับปัจจัยทั้งทางกายภาพ เช่น แสง อุณหภูมิ รวมทั้งการเตรียมชิ้นส่วนพืช และปัจจัยทางเคมี เช่น สารควบคุมการเจริญเติบโตโดยเฉพาะสารในกลุ่มไซโตไคนิน ที่นิยมใช้คือ N⁶-benzyladenine (BA) หรือ 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) (Deepika *et al.*, 2018) มีรายงานความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยหลายชนิด เช่น กล้วยน้ำว้า มะลิอ่อน (นิพิง และพีระศักดิ์, 2551) กล้วยหิน (อรุณี, 2557) กล้วยช้าง (พิชานนท์ และพจนมาลย์, 2557) กล้วยหอม (Hussein, 2012) เป็นต้น และยังมีรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยร่วมกับการใช้เทคนิค

การผ่าหน่อหรือลำต้นในสภาพปลอดเชื้อ เช่น การผ่าแบ่งหน่อกล้วยพันธุ์ Yangambi ออกเป็น 4 ส่วน มาเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อสามารถชักนำยอดรวมได้ถึง 8.37 ยอดต่อชิ้นส่วน (Ngomuo *et al.*, 2014) การตัดยอดและผ่าครึ่งตามยาวชิ้นส่วนยอดกล้วยหอมเขียว สามารถชักนำยอดรวมได้เฉลี่ย 3 ยอดต่อชิ้นส่วน (วรารักษ์ และสมปอง, 2560) เป็นต้น ในพืชอื่น ๆ เช่น จากรายงานของศรีนยา และคณะ (2558) พบว่า การผ่าจุกสับประรดพันธุ์ “MD2” ออกเป็น 4 ส่วน สามารถเพิ่มจำนวนหน่อพันธุ์ได้เฉลี่ยถึง 8.50 หน่อต่อชิ้นส่วน Josephine and Julian (2011) รายงานว่าการผ่าหน่อสับประรดพันธุ์ปัตตาเวีย ออกเป็น 4 ส่วน สามารถเพิ่มจำนวนหน่อใหม่ได้ถึง 543 หน่อ หลังจากการปลูกเป็นเวลา 6 เดือน และการผ่าแบ่งชิ้นส่วนลำต้นสับประรดพันธุ์เพชรบุรีออกเป็น 4 ส่วน สามารถเพิ่มปริมาณยอดรวมได้เฉลี่ย 5.78 ยอดต่อชิ้นส่วน หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (ยุพารักษ์ และเพชรพิกุล, 2560)

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะคัดเลือกต้นพันธุ์กล้วยน้ำว้าที่ปลอดโรค มาทำการขยายพันธุ์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ร่วมกับการใช้เทคนิคการผ่าหน่อในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งวิธีการนี้ นอกจากจะเป็นการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนพืชจากชิ้นส่วนเดิมแล้ว ยังสามารถชักนำให้ชิ้นส่วนพืชพัฒนาเป็นยอดรวมได้มากขึ้น ต้นกล้วยที่ได้มีความสม่ำเสมอ อีกทั้ง ยังเป็นการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์กรรมกล้วยไว้ในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อประโยชน์ในการขยายพันธุ์ หรือปรับปรุงพันธุ์กล้วยต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมชิ้นส่วนพืช

เก็บตัวอย่างหน่อจากต้นพันธุ์กล้วยน้ำว้าที่ปลอดโรค มาผ่านกระบวนการฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวของชิ้นส่วนพืช โดยล้างหน่อกล้วยให้สะอาดขัดด้วยแปรงขนนุ่มเบา ๆ ผ่านน้ำไหลแล้วผึ่งให้แห้ง ตัดชิ้นส่วนหน่อ แล้วลอกกาบตาออกโดยผ่านน้ำไหล นำหน่อที่ได้ใส่ในขวดน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แล้วใส่น้ำยาที่ไหล 2-3 หยด เขย่าเป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างผ่านน้ำไหลอีกเป็นเวลา 15 นาที ต่อมานำชิ้นส่วนพืชที่ได้มาแช่ในสารละลายแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 70.00 เป็นเวลา 30 วินาที นำมาฟอกต่อด้วยสารละลายคลอรีนเข้มข้นร้อยละ 20.00 ร่วมกับทิน 20 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เป็นเวลา 20 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้งภายในตู้ปลอดเชื้อ ชับชิ้นส่วนพืชด้วยกระดาษทิชชูที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้แห้ง ตัดบริเวณชิ้นส่วนพืชที่ชำและดำออก ให้เหลือขนาดชิ้นส่วนพืชประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำยอดเริ่มต้น (Murashige and Skoog, 1962 (MS) เติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ผงวุ้น 7.50 กรัมต่อลิตร (ดัดแปลงสูตรอาหารจากวิธีการของ วรารักษ์ และสมปอง, 2560) เพื่อใช้เป็นชิ้นส่วนพืชเริ่มต้นสำหรับการศึกษาลัดไป

2. ศึกษาผลของผงถ่านต่อการชักนำยอดรวม

นำปลายยอดกล้วยน้ำว้าที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อจากการเตรียมชิ้นส่วนพืช มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรชักนำยอดเริ่มต้น ร่วมกับการไม่เติมผงถ่าน (AC) หรือเติมที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.10 (ดัดแปลงจากวิธีการของ อรุณี, 2557) ภายหลังจากเพาะเลี้ยง 4 สัปดาห์ บันทึกร้อยละและจำนวนยอดรวมที่เกิดขึ้น

3. ศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการชักนำยอดรวม

นำปลายยอดกล้วยน้ำว้าที่ชักนำได้จากการศึกษาที่ 2 มาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 0 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (ดัดแปลงจากการศึกษาของ อรุณี, 2557) อาหารทุกสูตร

เติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 3.00 ผงวุ้นร้อยละ 0.75 และผงถ่านร้อยละ 0.10 ทำการย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมทุก 4 สัปดาห์ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกร้อยละและจำนวนยอดรวมที่เกิดขึ้น

4. ศึกษาผลของการผ่าหน่อ (bud splitting) ต่อการเกิดยอดรวม

นำยอดกล้วยน้ำว้าที่ได้ในสภาพปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงทั้งส่วนยอด หรือ ตัดยอด หรือตัดยอดแล้วผ่าตามยาวเป็น 2 ส่วน แล้วย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ดีที่สุดจากการศึกษาที่ 3 จากนั้นย้ายเลี้ยงขึ้นส่วนพืชบนอาหารสูตรเดิมทุก 4 สัปดาห์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกร้อยละและจำนวนยอดรวมที่เกิดขึ้น

5. ศึกษาผลของสูตรอาหารต่อการชักนำราก

นำยอดกล้วยน้ำว้าที่ชักนำได้จากการศึกษาที่ 4 มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร 3 สูตร ได้แก่ อาหารสูตร ¼ MS ½ MS และ MS อาหารทุกสูตร เติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 3.00 ผงวุ้นร้อยละ 0.75 และผงถ่านร้อยละ 0.10 ย้ายเลี้ยงทุก 4 สัปดาห์ หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกร้อยละและจำนวนรากที่เกิดขึ้น

6. สถานะการเพาะเลี้ยง และการวิเคราะห์ทางสถิติ

เพาะเลี้ยงขึ้นส่วนพืชที่อุณหภูมิ 26 ± 2 องศาเซลเซียส ภายใต้การให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่ความเข้มแสง 2,000-3,000 ลักซ์ ย้ายเลี้ยงทุก 4 สัปดาห์ โดยวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

ผลการวิจัย

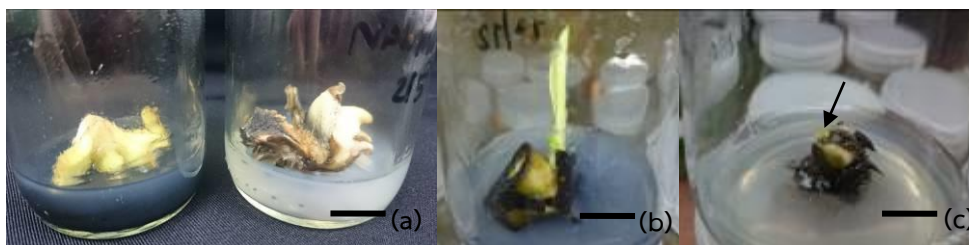
1. ผลของผงถ่านต่อการชักนำยอดรวม

จากการนำขึ้นส่วนหน่อกล้วยน้ำว้าที่ได้จากการชักนำยอดรวมบนอาหารแข็งสูตร MS เดิม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับการไม่เติมหรือเติมผงถ่านเข้มข้นร้อยละ 0.10 หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ขึ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมผงถ่าน ให้การพัฒนาของยอดร้อยละ 100 จำนวนยอดรวมเฉลี่ย 1.67 ± 0.51 ยอดต่อขึ้นส่วน ในขณะที่อาหารสูตรที่ไม่เติมผงถ่าน ให้การพัฒนาของยอดรวมร้อยละ 100 และให้จำนวนยอดรวมเฉลี่ย 1.42 ± 0.49 ยอดต่อขึ้นส่วน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 1) เมื่อพิจารณาถึงลักษณะของขึ้นส่วนพืชบนอาหารทั้งสองสูตร พบว่า ขึ้นส่วนของหน่อกล้วยน้ำว้าที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมผงถ่าน ค่อนข้างมีสีน้ำตาลถึงดำ บางส่วนขาวซีด แต่ยังสามารถให้การพัฒนาของยอดรวมได้ (ภาพที่ 1a) ส่วนขึ้นส่วนหน่อกล้วยน้ำว้าที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมผงถ่าน ยังคงมีสีเขียว บริเวณปลายยอดมีการบวมพอง และพัฒนาให้ยอดใหม่ได้ (ภาพที่ 1b) ส่วนยอดรวมที่พัฒนาจากขึ้นส่วนพืชในสูตรอาหารที่ไม่เติมผงถ่าน มีการเจริญเติบโตช้า ยอดมีขนาดเล็ก (ภาพที่ 1c)

ตารางที่ 1 ผลของผงถ่านต่อการสร้างยอดรวมของกล้วยน้ำว้า หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เต็ม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชูโครสร้อยละ 3.00 และ ผงวุ้นร้อยละ 0.75 เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ผงถ่าน (ร้อยละ)	การสร้างยอด (ร้อยละ)	จำนวนยอดต่อชิ้นส่วน
0	100	1.42±0.49
0.10	100	1.67±0.51
F-test	ns	ns
C.V. (%)	-	25.38

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



ภาพที่ 1 ชิ้นส่วนปลายยอดกล้วยน้ำว้าหลังจากเพาะเลี้ยงในอาหารชักนำยอดรวม (MS + BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร + ชูโครสร้อยละ 3.00 + ผงวุ้นร้อยละ 0.75) เป็นเวลา 2 สัปดาห์ (a) ลักษณะยอดบนอาหารร่วมกับการเติมผงถ่าน (b) และ ปราศจากการเติมผงถ่าน (c) เป็นเวลา 4 สัปดาห์

เมื่อพิจารณาผลการศึกษาที่ได้ พบว่า ร้อยละยอดรวมและจำนวนยอดรวมต่อชิ้นส่วนบนอาหารทั้งสองสูตร ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่ลักษณะของยอดรวมที่ได้บนอาหารสูตรที่เติมผงถ่านค่อนข้างสมบูรณ์ ยืดยาว มีสีเขียวเข้ม แต่ยอดที่พัฒนาบนสูตรอาหารที่ไม่เติมผงถ่านมีขนาดเล็กและเจริญเติบโตค่อนข้างช้า และชิ้นส่วนพืชมีการปลดปล่อยสารสีน้ำตาลหรืออาจจะเป็นสารประกอบฟีนอลิกออกมาค่อนข้างมาก ซึ่งสารดังกล่าวอาจส่งผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช ดังนั้น สำหรับการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนยอดรวมเพื่อให้ได้จำนวนมากพอสำหรับการศึกษาต่อไป จึงเลือกใช้สูตรอาหารที่มีการเติมผงถ่านเข้มข้นร้อยละ 0.10

2. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ต่อการชักนำยอดรวม

จากการศึกษานี้หลังวางเลี้ยงหน่อกล้วยน้ำว้าจากต้นที่ปลอดโรคเป็นเวลา 8 สัปดาห์ บนอาหารเต็ม BA ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า ทุกความเข้มข้นของ BA ให้การสร้างยอดรวมร้อยละ 100 โดยที่ความเข้มข้นของ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้การสร้างยอดรวมเฉลี่ยใกล้เคียงกันคือ 2.40 ยอดต่อชิ้นส่วน และ 2.60 ยอดต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ ส่วนสูตรอาหารที่ไม่เติม BA ให้จำนวนยอดน้อยที่สุด 1 ยอดต่อชิ้นส่วน แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การสร้างยอดรวมของกล้วยน้ำว้าหลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เต็ม BA ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ร่วมกับซูโครสร้อยละ 3.00 และผงวุ้นร้อยละ 0.75 เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	การสร้างยอด (ร้อยละ)	จำนวนยอดต่อชิ้นส่วน
0	100	1.00±0.52 ^b
1	100	2.40±0.73 ^a
2	100	1.40±0.73 ^b
3	100	2.60±0.50 ^a
4	100	1.70±0.83 ^b
5	100	1.40±0.73 ^b
F-test	ns	*
C.V. (%)	-	24.45

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

3. ผลของการผ่าหน่อต่อการเกิดยอดรวม

จากการศึกษาผลของการผ่าหน่อต่อการเกิดยอดรวมของกล้วยน้ำว้า พบว่า ทุกการทดลองให้การเพิ่มปริมาณยอดรวมร้อยละ 100 แต่การตัดยอดและผ่าครึ่งตามยาวออกเป็น 2 ส่วน ให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.30 ยอดต่อยอดที่เพาะเลี้ยง (จำนวนใบเฉลี่ย 2.30 ใบต่อต้น ความยาวยอด 3.22 เซนติเมตร) รองลงมาคือ การตัดยอดอย่างเดียวให้จำนวนยอดเฉลี่ย 1.60 ยอดต่อยอดที่เพาะเลี้ยง (จำนวนใบเฉลี่ย 2.20 ใบต่อต้น ความยาวยอด 4.23 เซนติเมตร) ส่วนการวางเลี้ยงทั้งยอดให้จำนวนยอดน้อยที่สุด 1 ยอดต่อยอดที่เพาะเลี้ยง (จำนวนใบเฉลี่ย 2.10 ใบต่อต้น ความยาวยอด 5.71 เซนติเมตร) (ตารางที่ 3) อย่างไรก็ตาม ในส่วนของจำนวนยอดและจำนวนใบ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ส่วนความยาวยอด มีความแตกต่างทางสถิติในระหว่างชุดทดลอง ยอดรวมที่ได้จากการผ่าแบ่งชิ้นส่วนก่อนการเพาะเลี้ยง มีลักษณะปกติ ลำต้นตรง ใบสีเขียว (ภาพที่ 2)

ตารางที่ 3 ผลของการผ่านต่อการสร้างยอดรวม จำนวนใบ และความยาวยอด หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เต็ม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับชูโครสร้อยละ 3.00 ผงถ่านร้อยละ 0.10 และผงวุ้นร้อยละ 0.75 เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ชุดทดลอง	การสร้างยอด (ร้อยละ)	จำนวนยอดเฉลี่ย (ยอดต่อชิ้นส่วน)	จำนวนใบเฉลี่ย (ใบต่อชิ้นส่วน)	ความยาวยอด (เซนติเมตร)
ยอดสมบูรณ์	100	1.00±0.47	2.10±0.32	5.71±0.42 ^a
ตัดปลายยอด	100	1.60±0.52	2.20±0.42	4.23±0.36 ^b
ตัดปลายยอดและผ่าครึ่งตามยาว	100	2.30±0.48	2.30±0.48	3.22±0.49 ^c
F-test	ns	ns	ns	*
C.V. (%)	-	24.07	17.03	17.95

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ทางสถิติ ($p < 0.05$)

4. ผลของสูตรอาหารต่อการพัฒนาของราก

เมื่อพิจารณาถึงการสร้างรากบนอาหารสูตรต่าง ๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร ½ MS ให้การสร้างรากสูงสุดร้อยละ 96.00 ให้จำนวนราก 5 รากต่อชิ้นส่วน ในขณะที่อาหารสูตร ¼ MS ให้การสร้างรากต่ำสุดร้อยละ 83.00 จำนวนรากเฉลี่ย 3.33 รากต่อชิ้นส่วน (ตารางที่ 4) ซึ่งต้นที่ได้จากการศึกษานี้ มีลักษณะลำต้นปกติ ยืดยาว ใบมีสีเขียว รากเป็นรากแขนง มีสีขาว เกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก บริเวณโคนลำต้น (ภาพที่ 3)

ตารางที่ 4 ผลของสูตรอาหารต่อการชักนำราก หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

สูตรอาหาร	การสร้างราก (ร้อยละ)	จำนวนรากต่อชิ้นส่วน
¼ MS	83.00	3.33±0.71
½ MS	96.00	5.00±0.50
MS	86.67	3.44±0.53
F-test	ns	ns
C.V. (%)	26.71	34.26

หมายเหตุ ns ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



ภาพที่ 2 ลักษณะการพัฒนาของยอดกล้วยน้ำว้า หลังจากการตัดและผ่าแบ่งชิ้นส่วนยอดเริ่มต้น แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เต็ม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับชูโครสร้อยละ 3.00 ผงถ่านร้อยละ 0.10 และผงวุ้นร้อยละ 0.75 หลังการย้ายเลี้ยง เป็นเวลา 8 สัปดาห์



ภาพที่ 3 ต้นกล้วยน้ำว้าที่สมบูรณ์บนอาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS เต็มน้ำตาลชูโครสร้อยละ 3.00 ผงวุ้นร้อยละ 0.75 และผงถ่านร้อยละ 0.10 หลังการย้ายเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

อภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษานี้ การเติมหรือไม่เติมผงถ่านลงในอาหารที่เพาะเลี้ยงไม่ส่งผลต่อการพัฒนาของยอดรวม มีผลเพียงควบคุมสารสีน้ำตาลที่ขึ้นส่วนพืชปลดปล่อยออกมา เช่นเดียวกับการศึกษาของ Gubbuk and Pekmezci (2007) ที่พบว่า การเติมผงถ่านลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยหอมแคระไม่ส่งผลต่อจำนวนยอดรวมแต่ส่งผลต่อการเกิดรากและช่วยยับยั้งสารสีน้ำตาลที่พืชปลดปล่อยออกมาเท่านั้น ในขณะที่พืชบางชนิด การเติมผงถ่านมีส่วนช่วยในการเจริญพัฒนาของต้นพืช เช่น การเติมผงถ่านลงในอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงถั่วปากอ้า (*Vicia faba*) ส่งผลให้จำนวนยอดรวม และความยาวยอดต่อชิ้นส่วนนั้นเพิ่มขึ้นด้วย (Abdelwahd *et al.*, 2008) หรือการเติมผงถ่านลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป่าปิด ส่งเสริมให้ต้นพืชมีความยาวใบ จำนวนใบ และความยาวรากเพิ่มขึ้น (ธนวดี และคณะ, 2559) อย่างไรก็ตาม การเกิดสารสีน้ำตาลในเนื้อเยื่อกล้วยจำเป็นต้องมีการกำจัดหรือลดปริมาณสารเหล่านี้ลง เพื่อเพิ่มผลสำเร็จของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย โดยมุ่งเน้นหาสารและปริมาณที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ ซึ่งการใช้ผงถ่านถือได้ว่าเป็นสารที่มีประสิทธิภาพชนิดหนึ่ง ที่ราคาไม่แพง และยังสามารถประยุกต์ใช้ได้กับพืชอีกหลายชนิด (Ngomuo *et al.*, 2014)

เมื่อพิจารณาผลของ BA ต่อจำนวนยอดรวม พบว่า ความเข้มข้นของ BA ที่ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้มีจำนวนยอดรวมสูงสุด สอดคล้องกับการศึกษาของ วราภรณ์ และสมปอง (2560) ที่พบว่า BA ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำยอดรวมได้สูงสุด เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ Rahman *et al.* (2013) ที่ได้รายงานไว้ว่า BA ในระดับความเข้มข้นต่ำกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มปริมาณยอดกล้วยสายพันธุ์ Agnishwar ได้ดีกว่าสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดอื่น ๆ ในขณะที่ อรุณี (2557) พบว่า การเติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตรลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยหิน สามารถชักนำยอดรวมได้สูงสุด และ Hussein (2012) พบว่า การใช้ BA ที่ความเข้มข้น 7 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำยอดรวมในกล้วย (ไม่ระบุสายพันธุ์) ได้ดีที่สุดในขณะนี้ อาจเป็นไปได้ว่า ชนิดหรือพันธุ์ของกล้วยที่แตกต่างกันส่งผลต่อการตอบสนองต่อ BA ที่แตกต่างกันด้วย อย่างไรก็ตาม BA เป็นฮอร์โมนพืชในกลุ่มไซโตไคนินสังเคราะห์ ที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออย่างแพร่หลาย เพื่อเพิ่มจำนวนยอดหรือกระตุ้นการแตกยอดในพืชหลาย ๆ ชนิด ซึ่งสารควบคุมการเจริญเติบโตถือเป็นปัจจัยหลักที่สำคัญต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย โดยเฉพาะสารในกลุ่ม ออกซิน และไซโตไคนิน ซึ่งส่วนใหญ่ในเนื้อเยื่อกล้วย นิยมใช้ BA หรือ kinetin ซึ่งอยู่ในกลุ่มไซโตไคนิน เติมลงในอาหารสูตรมาตรฐาน MS เพื่อชักนำให้เกิดยอดรวมเป็นจำนวนมาก และยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในตัวของพืชเองด้วย (Danot, 2007) สารควบคุมการเจริญเติบโต BA มีบทบาทสำคัญในการลดการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด และจะส่งเสริมให้เนื้อเยื่อพืชมีการเจริญทางด้านข้าง (Khalid, 2011) การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้น ขึ้นอยู่กับระยะการพัฒนาของเนื้อเยื่อพืชด้วย โดยปกติแล้วสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน มักส่งเสริมการสร้างตายอด (Ngomuo *et al.*, 2014) นอกจากนี้ในกล้วยแล้ว ยังใช้ได้ดีในพืชหลายชนิด เช่น ม่วงเทพรัตน์ (ยุพภรณ์ และคณะ, 2558) ต้นพรมมิ (สกุลรัตน์ และคณะ, 2559) และ สับปะรด (ยุพภรณ์ และเพชรพิกุล, 2560) เป็นต้น

สำหรับผลของเทคนิคการผ่าหน่อ ต่อการเพิ่มและพัฒนาของยอดรวม พบว่า การตัดยอดและผ่าครึ่งตามยาวออกเป็น 2 ส่วน ให้จำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด 2.30 ยอดต่อชิ้นส่วน ในขณะที่ชิ้นส่วนที่ไม่ได้ผ่าแบ่ง ให้จำนวนยอดเฉลี่ยเพียง 1 ยอด สอดคล้องกับการรายงานของ วราภรณ์ และสมปอง (2560) ที่รายงานไว้ว่า การตัดยอดและผ่าแบ่งชิ้นส่วนกล้วยหอมทองออกเป็น 2 ส่วนตามแนวยาว สามารถชักนำยอดรวมในสภาพปลอดเชื้อได้เฉลี่ยสูงสุด 4.40 ยอดต่อยอดที่เพาะเลี้ยงซึ่งมากกว่าการวางเลี้ยงทั้งชิ้นส่วนพืชเริ่มต้น เช่นเดียวกันกับ Ngomuo *et al.* (2014) ที่พบว่า การผ่าแบ่งหน่อกล้วยพันธุ์ Yangambi ออกเป็น 2 หรือ 4 ชิ้นส่วน แล้วนำไปเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ สามารถส่งเสริมให้เกิดยอดรวมใหม่ได้เฉลี่ยถึง 8.37 ยอดต่อชิ้นส่วน ส่วนในพืชชนิดอื่น เช่น การผ่าแบ่งชิ้นส่วนหน่อหรือลำต้นสับปะรดพันธุ์เพชรบุรีก่อนการเพาะเลี้ยงให้ผลเป็นไปในทำนองเดียวกันคือ สามารถเพิ่มปริมาณยอดรวมได้มากกว่าชิ้นส่วนพืชที่ไม่ได้ผ่าแบ่ง (ยุพภรณ์ และเพชรพิกุล, 2560) การประยุกต์ใช้เทคนิคการผ่าหน่อ หรือลำต้น ออกตามยาว เป็นการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนพืชเริ่มต้น ซึ่งจะส่งเสริมให้พืชแตกตาทางด้านข้างเพิ่มขึ้น โดยปกติการพัฒนาของตาข้างพืชจะถูกควบคุมโดยตายอดและฮอร์โมนออกซินที่อยู่บริเวณปลายยอดซึ่งมีหน้าที่กระตุ้น Acetylene (C_2H_2) ในลำต้น ซึ่งการพัฒนาของเนื้อเยื่อด้านข้างถูกยับยั้งโดยเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด โดยที่เนื้อเยื่อเจริญทางด้านข้างเหล่านี้จะพัฒนาได้เมื่อเนื้อเยื่อเจริญทางยอดถูกยับยั้งหรือเกิดความเสียหาย อิทธิพลการข่มโดยตายอดถูกควบคุมโดยสารประกอบบางชนิดที่ถูกปลดปล่อยโดยตาข้าง ซึ่งจะยับยั้งการเจริญของตาข้าง อีกทั้งยังถูกควบคุม

โดยสารควบคุมการเจริญเติบโต (Hussein, 2012) การผ่าแบ่งชิ้นส่วนพืช นอกจากลดอิทธิพลการข่มตาข้างของออกซินแล้วยังทำให้ชิ้นส่วนมีขนาดเล็กลง ปริมาณอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นหน่อใหม่ที่มีเหลือในชิ้นส่วนจึงน้อยลงด้วยเช่นกัน ตาที่มีความแข็งแรงที่สุดจึงจะสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ อีกทั้งการผ่าให้ชิ้นมีขนาดเล็กลงยังทำให้ชิ้นส่วนมีความอ่อนแอด้วยเช่นกัน (ศรีนยา และคณะ, 2558)

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษานี้ กระบวนการเพาะเลี้ยงปลายยอดกล้วยที่เหมาะสมคือ การนำชิ้นส่วนพีชมาตัดยอดแล้วผ่าแบ่งออกเป็นสองส่วนตามแนวยาว จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรสำหรับการชักนำยอดรวมคือ อาหารสูตร MS เติม BA เข้มข้น 1-3 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครสร้อยละ 3.00 ผงวุ้นร้อยละ 0.75 และ ผงถ่านร้อยละ 0.10 เพาะเลี้ยงภายใต้ที่มีแสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 26 ± 2 องศาเซลเซียสพบว่า สามารถชักนำยอดรวมได้เฉลี่ย 2-3 ยอดต่อชิ้นส่วน ซึ่งต้นกล้วยที่ได้ ปลอดโรค มีความสม่ำเสมอของต้นพันธุ์ สามารถขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มจำนวน แล้วนำไปทดลองปลูกเพื่อศึกษาการเจริญเติบโตต่อไปได้อีกทั้งวิธีการนี้ ยังเป็นการเก็บรักษาเชื้อพันธุ์กล้วยที่ปลอดโรคไว้ในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อใช้ในโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์กล้วยในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา ที่สนับสนุนทุนสำหรับการวิจัย และสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราชที่ได้เอื้อเพื่อให้คำแนะนำ และวัสดุบางส่วนสำหรับการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- กัลยาณี สุวิทวัส ภาสันต์ ศารทลุต พินิจ กรินทร์ธัญญกิจ พิมพ์นิภา เพ็งช่าง เรื่องศักดิ์ กมขุนทด และขวัญหทัย ทนงจิตร. (2558). อัตราการเจริญเติบโตของกล้วยน้ำว้า 8 พันธุ์จากต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*, 46(3)(ฉบับพิเศษ), 213-216.
- ธนวดี พรหมจันทร์ สุภาวดี รามสูตร และปรีดา บุญเวศน์. (2559). ผลของผงถ่านและวัสดุปลูกต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดชีวิตของต้นกล้วยไม่เอื้องกุหลาบกระเป๋าคิด. *วารสารวิชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช*, 35(2), 53-61.
- นิพิจ พินิจผล และพีระศักดิ์ ฉายประสาท. (2551). การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยน้ำว้ามะลิเอื้อง. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*, 39(3)(ฉบับพิเศษ), 116-119.
- พัชรัตน์ เย็นใส และพจมาลย์ สุรนิลพงศ์. (2557). ผลของ benzyladenine และ thidiazuron ต่อการชักนำยอดรวมของกล้วยช้างในสภาพปลอดเชื้อ. *แก่นเกษตร*, 42(3)(ฉบับพิเศษ), 157-161.
- ยุพาภรณ์ จิโรภาสภานุวงศ์ สุภาวดี รามสูตร เกศศิริรินทร์ มหรรณพ และธิดารัตน์ นิลกระวีร์. (2558). การเพิ่มประสิทธิภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อม่วงเทพรัตน์ในสภาพปลอดเชื้อโดยใช้พาโคลบิวทราโซล. *วารสารวิชา มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช*, 34(1), 53-60.

- ยุพารณณ์ วิริยะนันท์ และเพชรพิกุล วางมุล. (2560). ผลของเทคนิคการผ่าหน่อต่อการเพิ่มจำนวนต้นสับประรดพันธุ์เพชรบุรี (Queen Group) ในสภาพปลอดเชื้อ. *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์*, 4(4), 10-15.
- วารารณณ์ หีดนิม และสมปอง เตชะโต. (2560). ผลของการเตรียมชิ้นส่วนและความเข้มข้นของ BA ต่อการสร้างยอดรวมของกล้วยหอมเขียวในหลอดทดลอง. *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์*, 4(2), 6-12.
- ศรันยา คุ่มป्ली ธีร์ หะวานนท์ และภาสันต์ ศารทลู่ทัต. (2558). การเพิ่มจำนวนหน่อพันธุ์สับประรด 'MD2' โดยวิธีการผ่าจุก. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*, 46(3)(ฉบับพิเศษ), 121-124.
- สกุรัตน์ แสนปุตตะวงษ์ ทิวา รักนิ่ม และสมปอง เตชะโต. (2559). ผลของสูตรอาหารต่อการสร้างแคลลัสและการพัฒนาเป็นพืชต้นใหม่ของ *Bacopa monnieri* L. *วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย*, 8(1), 22-30.
- อรุณี ม่วงแก้วงาม. (2557). การขยายพันธุ์กล้วยหิน (*Musa sapientum* Lin.) ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอด. *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์*, 1(3), 24-27.
- Abdelwahd, R., Hakam, N., Labhili, M. and Udupa, S.M. (2008). Use of an absorbant and antioxidant to reduce the effect of leached phenolics in *in vitro* plantlet regeneration of faba bean. *African Journal of Biotechnology*, 7(8), 997-1002.
- Danot, M.U. (2007). Morpho-Physiological aspects of micro-propagating banana under different hormonal condition. *Asian Journal of Plant Sciences*, 6(3), 496-501.
- Deepika, C., Basanti, B., Singh, J.D., Subhash, K. and Anil, P. (2018). An insight into *in vitro* micropropagation studies for banana-review. *Internation Journal of Agriculture Sciences*, 10(5), 5346-5349.
- Gubbuk, H. and Pekmezci, M. (2007). *In vitro* propagation of banana (*Musa* spp.) using thidiazuron and activated charcoal. *Acta Agriculture Scandinavica, Section B-Soil & Plant Science*, 56(1), 65-69.
- Hussein, N. (2012). Effects of nutrient media constituents on growth and development of banana (*Musa* spp.) shoot tips cultured *in vitro*. *African Journal of Biotechnology*, 11(37), 9001-9006.
- Josephine, U.A. and Julian, O. (2011). Split crown technique for mass propagation of smooth Cayenne pine apple in South-South Nigeria. *African Journal of Plant Science*, 5(10), 591-598.
- Khalid, N. (2011). Effect of Benzylaminopurine (BAP) pulsing on *in vitro* shoot multiplication of *Musa acuminata* (banana) cv. Berangan. *African Journal of Biotechnology*, 10(13), 2446-2450.
- Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497.

- Ngomuo, M., Mneney, E. and Ndakidemi, P.A. (2014). The *in vitro* propagation techniques for producing banana using shoot tip cultures. *American Journal of Plant Sciences*, 5(11), 1614-1622.
- Rahman, S., Biswas, N., Hassan, M.M., Ahmed, M.G., Mamun, A., Islam, M.R., Moniruzzaman, M. and Haque, M.E. (2013). Micropropagation of banana (*Musa* sp.) cv. Agnishwar by *In vitro* shoot tip culture. *International Research Journal of Biotechnology*, 4(4), 83-88.