วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ ปีที่ 1 ฉบับที่ 3 (กรกฎาคม-กันยายน): 24-27, 2557
Songklanakarin Journal of Plant Science, Vol. 1, No. 3 (July-September): 24-27, 2014

Research article

การขยายพันธุ์กล้วยหิน (*Musa sapientum* Lin.) ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอด
Micropropagation of Saba (*Musa sapientum* Lin.) *In Vitro* through Shoot Tip Culture

อรุณี ม่วงแก้วงาม [1*]
Muangkaewngam, A. [1*]

[1] ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา อ.เมือง จ.ยะลา 95000
[1] Department of Agricultural Technology, Faculty of Science Technology and Agriculture, Yala Rajabhat University, Yala, Thailand 95000

*Corresponding author: muangkaewngam.arunee@gmail.com
Received 13 August 2013; Revised 25 March 2014; Accepted 27 March 2014

บทคัดย่อ

การขยายพันธุ์กล้วยหินด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยการวางเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดที่ปลอดเชื้อบนอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (MS) เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต Benzyladenine (BA) ผงถ่าน และน้ำมะพร้าวความเข้มข้นต่าง ๆ ต่ออัตราการเกิดยอดรวมและจำนวนยอดที่สร้าง หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ปลายยอดกล้วยหินที่วางเลี้ยงบนอาหารเติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิดยอดรวมและจำนวนยอดสูงสุด 58.35% และ 3.25 ยอด ตามลำดับ การเติมผงถ่านในอาหารเพาะเลี้ยงส่วนปลายยอดกล้วยหิน สามารถลดการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อเยื่อได้ แต่จำนวนยอดที่ได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ การเติมน้ำมะพร้าวช่วยส่งเสริมการเกิดยอดรวมเพิ่มขึ้น โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 15% ทำให้เกิดยอดรวมและจำนวนยอดสูงสุด 58.94% และ 3.50 ยอด ตามลำดับ
คำสำคัญ : การขยายพันธุ์ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช กล้วยหิน ยอดรวม

Abstract

Micropropagation of *Musa sapientum* by culturing shoot tip on Murashige and Skoog (MS) medium was carried out in order to study the effects of Benzyladenine (BA), activated charcoal (AC) and coconut water (CW) on percentage of multiple shoot induction and number of shoot formation. After 12 weeks of culture, 5 mg/l BA containing MS medium gave the highest percentage of multiple shoot induction and number of shoots at 58.35% and 3.25 shoots/cultured shoot respectively. Addition of AC to culture medium could reduce browning of cultured explants and culture medium as well. However, the numbers of shoots obtained were not significantly different. For CW, it could slightly increase the number of shoots, and the concentration at 15% gave the highest percentage of multiple shoot formation at 58.94% and number of shoot at 3.50 shoots/cultured shoot.
Keywords: Micropropagation, plant tissue culture, *Musa sapientum*, multiple shoot formation

บทนำ

กล้วยหินเป็นพืชท้องถิ่นที่สำคัญของจังหวัดยะลา มีพื้นที่ปลูก 2,995.50 ไร่ ผลผลิต 3,433.34 ตัน สร้างรายได้ให้กับเกษตรกรในพื้นที่คิดเป็นมูลค่า 41.36 ล้านบาท (มนูญ, 2544) กล้วยหินสามารถนำมาบริโภคโดยตรง หรือนำมาผ่านกระบวนการแปรรูป นอกจากจะเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคแล้ว กล้วยหินยังเป็นที่นิยมมากในกลุ่มผู้เลี้ยงนกปรอดหัวโขนหรือนกกรงหัวจุก ทำให้ความต้องการกล้วยหินเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ในขณะที่ผลผลิตในท้องตลาดมีไม่เพียงพอกับความต้องการ ส่งผลให้ราคากล้วยหินสูงขึ้นเรื่อย ๆ การปลูกกล้วยหินในปัจจุบันเกษตรกรอาศัยการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเดียวคือการใช้หน่อ ทำให้ความต้องการหน่อกล้วยหินเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ราคาหน่อกล้วยหินสูงถึงหน่อละ 80-100 บาท ดังนั้นหากต้องการจะส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกกล้วยหินเพิ่มขึ้นเพื่อรองรับความต้องการของตลาดทั้งในรูปการบริโภคสด ใช้เป็น

Online open access e-journal : www. natres.psu.ac.th/department/plantScience/sjps/default.htm
Published by Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University. All rights reserved.
For Permissions, please e-mail: nr-sjps@group.psu.ac.th.

อาหารสัตว์หรืออุตสาหกรรมแปรรูป จำเป็นต้องมีหน่อกล้วยหินที่มีคุณภาพในปริมาณที่เพียงพอกับความต้องการ

การขยายพันธุ์กล้วยหินด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถตอบสนองความต้องการดังกล่าวได้เป็นอย่างดีเนื่องจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยหินจะทำให้ได้ต้นใหม่จำนวนมาก ในระยะเวลาอันสั้น การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยหินทำโดยการวางเลี้ยงส่วนปลายยอด เช่นเดียวกับการขยายพันธุ์กล้วยชนิดอื่น ๆ Kalimuthu และคณะ (2007) ได้วางเลี้ยงส่วนปลายยอดกล้วยบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย NAA เข้มข้น 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำการเกิดยอดใหม่ได้ร้อยละ 95 และจำนวนยอดเฉลี่ย 3 ยอดต่อหนึ่งชิ้นส่วนที่วางเลี้ยง สารควบคุมการเจริญเติบโต BA มีประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดยอดรวมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยได้สูงกว่าสารควบคุมการเจริญเติบโต ชนิดอื่น และทำให้ต้นใหม่ที่ได้แข็งแรง มีอัตราการรอดชีวิตหลังจากย้ายออกจากหลอดทดลองสูง (Wong, 1986)

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

การขยายพันธุ์กล้วยหินด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทำโดยการวางเลี้ยงส่วนยอดกล้วยหินขนาด 0.50 เซนติเมตรบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA 6 ความเข้มข้น (0 1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร) ผงถ่าน 3 ความเข้มข้น (0 0.1 และ 0.2%) และน้ำมะพร้าว 4 ความเข้มข้น (0 10 15 และ 20%) โดยวางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ บันทึกอัตราการเกิดยอดรวม และจำนวนยอดรวมเปรียบเทียบกันโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design, CRD) ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ๆ ละ 20 ชิ้นส่วน วิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นไม่น้อยกว่าร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS

ผลการทดลอง

1. ผลของ BA ต่อความสามารถในการเกิดยอดรวม

การทดลองวางเลี้ยงส่วนปลายยอดกล้วยหินบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA 6 ความเข้มข้น พบว่า สามารถชักนำการเกิดยอดรวมได้ทั้งหมด โดยเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของ BA ส่งผลให้อัตราการเกิดยอดรวมเพิ่มขึ้น และสูงสุดที่ BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเกิดยอดรวมเท่ากับ 58.35% แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติกับ BA ความเข้มข้นอื่นๆ ส่วนการวางเลี้ยงชิ้นสวนปลายยอดกล้วยหินบนอาหารที่ไม่มี BA ไม่สามารถชักนำให้มีการพัฒนาของยอดใหม่เกิดขึ้น (Table 1) ในกรณีของจำนวนยอดรวม พบว่าเป็นไปในทำนองเดียวกับอัตราการเกิดยอดรวมกล่าวคือการวางเลี้ยงส่วนปลายยอดกล้วยหินบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดสูงสุด 3.25 ยอดต่อหนึ่งชิ้นส่วนที่วางเลี้ยง

Table 1 Effect of various concentrations of BA on percentage of multiple shoot induction and number of shoots per explants of *Musa sapientum* on MS medium after 12 weeks of culture.

Concentrations of BA (mg/l)	Percentage of shoot induction	Average number of shoots /explant
0	0.00^{e}	0.00^{d}
1	3.00^{d}	0.75^{d}
2	11.21^{c}	1.25^{c}
3	22.50^{c}	1.75^{c}
4	46.31^{b}	2.75^{bc}
5	58.35^{a}	3.25^{a}
F-test	*	*
C.V. (%)	13.45	28.18

^{ns} non-significant difference

* significant at P ≤ 0.05

Means followed by the same letter within each column are not significantly different at P ≤ 0.05, according to DMRT.

2. ผลของผงถ่านต่อความสามารถในการเกิดยอดรวม

การวางเลี้ยงส่วนปลายยอดกล้วยหินบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงถ่าน 3 ความเข้มข้น พบว่า ผงถ่านทุกระดับความเข้มข้นสามารถเกิดยอดรวมได้ทั้งหมด โดยเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของผงถ่าน อัตราการเกิดยอดรวมมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และสูงสุดที่ผงถ่านความเข้มข้น 0.20% ให้อัตราการเกิดยอดรวมเท่ากับ 51% ผลที่ได้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับระดับความเข้มข้นอื่น ๆ ที่ทดลอง (Table 2) ในกรณีของจำนวนยอดที่เกิดขึ้นพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ กล่าวคือการวางเลี้ยงส่วนปลายยอดกล้วยหินบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมผงถ่านระดับความเข้มข้น 0.20 0.10 และ 0% สามารถชักนำยอดรวมได้เท่ากับ 2.75 2.75 และ 1.25 ยอด ตามลำดับ (Figure 1)

Table 2 Effect of various concentrations of activated charcoal on percentage of shoot induction and number of shoots per explant of *Musa sapientum* on MS medium after 12 weeks of culture.

Concentrations of AC (%)	Percentage of shoot induction	Average number of shoots /explant
0	30.69^{b}	1.25
0.10	35.50^{b}	2.75
0.20	51.00^{a}	2.75
F-test	*	ns
C.V. (%)	8.72	

^{ns} non-significant difference

* significant at P ≤ 0.05

Means followed by the same letter within each column are not significantly different at P ≤ 0.05, according to DMRT.

Figure 1 Multiple shoot formation from cultured shoot tip on MS medium supplemented with 5 mg/l BA and 0.20% AC after 12 weeks of culture.

Table 3 Effect of various concentrations of coconut water on percentage of shoot induction and number of shoots per explants of *Musa sapientum* on MS medium after 12 weeks of culture.

Concentrations of coconut water (%)	Percentage of shoot induction	Average number of shoots /explant
0	31.87[c]	1.25[b]
10	40.69[b]	1.75[b]
15	58.94[a]	3.50[a]
20	56.31[a]	2.50[ab]
F-test	*	*
C.V. (%)	15.65	9.66

* significant at P ≤ 0.05

Means followed by the same letter within each column are not significantly different at P ≤ 0.05, according to DMRT.

3. ผลของน้ำมะพร้าวต่อความสามารถในการเกิดยอดรวม

การนำส่วนปลายยอดกล้วยหินวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ผงถ่านความเข้มข้น 0.20% และน้ำมะพร้าว 4 ความเข้มข้น พบว่าทุกความเข้มข้นที่ทำการทดลอง สามารถเกิดยอดรวมได้ทั้งหมด โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมะพร้าวส่งผลให้อัตราการเกิดยอดรวมเพิ่มขึ้น และสูงสุดที่น้ำมะพร้าวความเข้มข้น 15% ให้อัตราการเกิดยอดรวมเท่ากับ 58.94% แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกับระดับความเข้มข้นอื่น ๆ ที่ทดลอง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมะพร้าวเป็น 20% ส่งผลให้อัตราการเกิดยอดรวมลดลง (Table 3) ในกรณีของจำนวนยอดที่เกิดขึ้น พบว่าเป็นไปในทำนองเดียวกับอัตราการเกิดยอดรวม กล่าวคือเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมะพร้าวส่งผลให้จำนวนยอดรวมเพิ่มขึ้น และสูงสุดเมื่อใช้น้ำมะพร้าวความเข้มข้น 15% ให้จำนวนยอดรวม 3.50 ยอด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระดับความเข้มข้นอื่น ๆ ที่ทดลอง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมะพร้าวเป็น 20% ส่งผลให้จำนวนยอดรวมลดลง

วิจารณ์ผล

การทดลองวางเลี้ยงส่วนปลายยอดกล้วยหินบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ผงถ่านและน้ำมะพร้าว พบว่าหลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ชิ้นส่วนจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และเริ่มมีการพัฒนาของเนื้อเยื่อใหม่ขึ้นหลังจากวางเลี้ยงต่อไปอีก 4-5 สัปดาห์ และต่อมาจะพัฒนาเป็นยอดใหม่โดยผ่านกระบวนการเกิดยอดใหม่โดยตรง (direct shoot organogenesis) สอดคล้องกับการทดลองกับกล้วยสายพันธุ์ BARI Banana I ซึ่งพบว่า ชิ้นส่วนปลายยอดจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลภายใน 4-5 วัน และเกิดยอดใหม่หลังจากวางเลี้ยง 30-50 วัน ความเข้มข้นของ BA ที่เหมาะสมคือ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (Al-Amin *et al*., 2009) ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่สูงกว่าระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดของการเพาะเลี้ยงกล้วยหินในการทดลองนี้ แม้ว่าจะเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ Musaceae เช่นเดียวกันแต่ตอบสนองต่อความเข้มข้นของ BA ที่แตกต่างกัน ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะปัจจัยภายในของพืชที่แตกต่างกัน เช่น ปัจจัยทางพันธุกรรมของพืชแต่ละชนิด เช่น รายงานของ Buah และคณะ (2010) รายงานว่ากล้วยชนิด plantain สายพันธุ์ Oniaba และ Apantu pa ตอบสนองต่อสารกลุ่มไซโตไคนินต่างกัน โดยจะตอบสนองต่อ BA ความเข้มข้น 4.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มากที่สุด การเติมผงถ่านเป็นสารที่ช่วยลดปฏิกิริยาการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลของเนื้อเยื่อพืชเมื่อเกิดบาดแผลและน้ำมะพร้าวที่มีคุณสมบัติคล้ายกับสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน จึงทำให้ชิ้นส่วนปลายยอดกล้วยหินเกิดยอดใหม่ได้เพิ่มขึ้น

สรุปผล

การขยายพันธุ์กล้วยหินสามารถทำได้โดยการนำส่วนปลายยอดมาผ่านกระบวนการฟอกฆ่าเชื้อและวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าว 15% และผงถ่าน ความเข้มข้น 2% สามารถชักนำยอดรวมได้สูงสุด 58.9% และจำนวนยอดเฉลี่ย 3.50 ยอดต่อหนึ่งชิ้นส่วนที่วางเลี้ยง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ศ.ดร.สมปอง เตชะโต อาจารย์ประจำภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ที่ให้ความรู้และคำแนะนำในการทำวิจัยและการเขียนบทความ

เอกสารอ้างอิง

มนูญ ศิรินุพงศ์. 2544. กล้วยหินพืชเศรษฐกิจชุมชนจังหวัดยะลา. วารสารเคหการเกษตร 25: 113-118.

Al–Amin, M.D., Karim, M.R., Amin, M. R., Rahman, S. and Mamun, A.N.M. 2009. *In vitro* micropropagation of banana. Bangladesh Journal of Agriculture Research 34: 645-659.

Buah, J.N., Danso, E., Taah, K.J., Abole, E.A., Bediako, E.A., Asiedu, J. and Baidoo, R. 2010. The effects of different

concentrations cytokinins on the *in vitro* multiplication of plantain (*Musa* sp.). Biotecnology 7: 1-5.

Kalimuthu K., Saravanakumar M. and Senthikumar R, 2007. *In vitro* micropropagation of *Musa sapientum* L. (Cavendish Dwarf). African Journal of Biotechnology 6: 1106-1109.

Wong, W.C. 1986. *In vitro* propagation of banana (*Musa* spp.): initiation, proliferation and development of shoot tip cultures on defined media. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 6: 159-166.

SJPS-PP-O-M02-130813-002