

อิทธิพลของสารอินทรีย์ต่อการแตกหน่อของกล้วยน้ำไทในสภาพปลอดเชื้อ
INFLUENCE OF ORGANIC ADDITIVES ON MULTIPLE SHOOT
FORMATION OF *MUSA* (AA GROUP) 'KLUAI NAM THAI' *IN VITRO*

อรพิน เสละคร คงเดช พะสีนาม ธันวาคม กาศสนุก* และสุदारัตน์ สุตพันธ์
Orapin Selakorn, Khongdet Phasinam, Thanwamas Kassanuk* and Sudarat Sutaphan

บทคัดย่อ

กล้วยน้ำไท (*Musa* (AA group) 'Kluai Nam Thai') เป็นกล้วยที่พบได้น้อยในประเทศไทย และเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมและการกระทำของมนุษย์ ดังนั้นจึงนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ในการขยายพันธุ์เพื่อให้ได้ต้นกล้วยเพิ่มมากขึ้น โดยการศึกษาอิทธิพลของสารอินทรีย์ต่อการแตกหน่อของกล้วยน้ำไทภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ โดยการนำชิ้นส่วนปลายยอดหน่อกล้วยน้ำไทมาเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว น้ำสับปะรดคั้น และน้ำส้มคั้น ความเข้มข้น 200 มิลลิลิตรต่อลิตร เป็นเวลา 4 เดือน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) พบว่า สูตรอาหาร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 200 มิลลิลิตรต่อลิตร ให้จำนวนหน่อเฉลี่ยสูงสุด 1.71 หน่อต่อยอดที่เพาะเลี้ยง ความยาวหน่อเฉลี่ยสูงสุด 4.25 เซนติเมตร และจำนวนใบเฉลี่ยสูงสุด 4 ใบต่อต้น ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

คำสำคัญ: กล้วยน้ำไท การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สารอินทรีย์

คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000
Faculty of Food and Agricultural Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Muang District, Phitsanulok Province 65000

*corresponding author e-mail: t.kassanuk@gmail.com

Received: 8 June 2020; Revised: 18 June 2020; Accepted: 22 August 2020

Abstract

'Kluai Nam Thai' (*Musa AA group*) are rare in Thailand and it is at risk of extinction because of environmental changes and human behavior. Hence, the plant tissue culture technique is used for propagation. The influence of organic additives on multiple shoot formation of Kluai Nam Thai *in vitro* was investigated. Shoot explants were cultured on MS medium supplemented with coconut water, pineapple juice and orange juice at a 200 mL/L concentration for four months. The experimental design was Completely Randomized Design (CRD). The results indicated that MS medium supplemented with 200 mL/L coconut water gave the highest average number of shoots 1.71 shoots/explant, the highest average shoot length 4.25 cm and the highest average number of leaf four leaves/explant which were significantly different ($p \leq 0.01$).

Keywords: *Musa* (AA group) 'Kluai Nam Thai', Plant tissue culture, Organic additives

บทนำ

กล้วยน้ำไท (*Musa* (AA group) 'Kluai Nam Thai') ชื่อวิทยาศาสตร์ *Musa acuminata* เป็นผลไม้เขตร้อนจัดอยู่ในวงศ์ MUSACEAE กลุ่มจีโนม AA เป็นกล้วยพื้นเมืองที่หายาก พบในแถบภาคกลางบางจังหวัด กล้วยน้ำไทมีลำต้นเทียมสูงประมาณ 2.5 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 15 เซนติเมตร กาบลำต้นด้านนอกมีประดำหนา ส่วนโคนด้านนอกและด้านในมีสีชมพูอมแดง ก้านใบตั้งขึ้น มีร่องก้านใบกว้าง ปีกก้านใบสีชมพู เส้นใบสีชมพูอมแดง ก้านช่อดอกมีขน ใบประดับรูปไข่ค่อนข้างยาว ปลายแหลมและม้วนงอขึ้น ด้านบนมีสีม่วงอมแดง ด้านล่างสีซีด หนึ่งเครือมีประมาณ 5 หวี และมี 12-18 ผลต่อหวี ลักษณะของผลคล้ายกล้วยหอมจันทร์ ขนาดกว้าง 20.0-20.5 มิลลิเมตร ยาว 10-11 เซนติเมตร ผลอ่อนเล็กน้อย มีหัวจุกใหญ่แต่เล็กกว่ากล้วยหอมจันทร์ ที่ปลายจุกมีก้านเกสรตัวเมียติดอยู่ เปลือกหนากว่ากล้วยหอมจันทร์ มีกลิ่นหอมเย็น เมื่อผลสุกมีสีเหลืองเข้มกว่ากล้วยหอมจันทร์และมีจุดดำเล็ก ๆ ที่เปลือกคล้ายจุดของกล้วยไข่ เนื้อในสีเหลืองส้ม และมีรสหวาน (Silayoi, 2015)

กล้วยน้ำไทมีประโยชน์ทางยา เช่น ยางจากผลดิบมีรสฝาดใช้เช็ดลิ้นเด็กแก้ละอองซาง เปลือกผลเผาไฟทาแก้ปากเปื่อย และผลสุกรับประทานช่วยในการเจริญอาหาร เป็นต้น โดยในสมัยบรรพกาลใช้กล้วยน้ำไทประกอบพิธีกรรมต่าง ๆ เช่น การบูชาพระแม่โพสพ พิธีไหว้ครู และพิธีพราหมณ์ เป็นต้น (Sriisaad & Usuwat, 2013) ปัจจุบันกล้วยน้ำไทไม่เป็นที่รู้จักของคนทั่วไป และไม่มีการขยายพันธุ์อย่างแพร่หลาย กอปรกับมนุษย์ปล่อยปะละเลยไม่บำรุงรักษาแปลงปลูกกล้วยให้เหมาะสม จึงส่งผลกระทบต่อพันธุ์ของกล้วย ทำให้มีโอกาสดูแลการสูญเสียพันธุ์ไปจากธรรมชาติ เพื่อเป็นการช่วยส่งเสริมการขยายพันธุ์กล้วยน้ำไทให้มีปริมาณเพิ่มขึ้น จึงได้นำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาเป็นทางเลือกในการขยายพันธุ์ให้ได้จำนวนต้นมากในระยะเวลาอันสั้น ต้นใหม่เจริญเติบโตสม่ำเสมอ ปราศจากโรค

และแมลงต่าง ๆ รวมถึงลดข้อจำกัดในการขยายพันธุ์กล้วยตามธรรมชาติได้ (Kanchanapoom, 2001) แต่เนื่องจากสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมีราคาสูง จึงได้นำน้ำผลไม้จากธรรมชาติมาทดแทนสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งน้ำผลไม้จากธรรมชาติมีส่วนประกอบของฮอร์โมน คาร์บอน และวิตามินที่ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช (Alfred et al., 2015) โดย Selakom et al. (2020) ได้ศึกษาความเข้มข้นของน้ำมะพร้าวที่เหมาะสมต่อการแตกหน่อของกล้วยนากภายใต้สภาวะปลอดเชื้อ โดยใช้สูตรอาหาร MS (Murashige & Skoog, 1962) ที่เติมน้ำมะพร้าวความเข้มข้นต่าง ๆ เลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าการใช้น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณการแตกหน่อดีที่สุด และ Alfred et al. (2015) ได้ทดลองใช้ความเข้มข้นของน้ำส้มคั้นต่อการแตกหน่อของ Cocoyam (Taro) ในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้สูตรอาหาร MS เติมน้ำส้มคั้นที่ความเข้มข้นแตกต่างกันและวางเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า การใช้น้ำส้มคั้น 15 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณการแตกหน่อดีที่สุด สำหรับน้ำสับปะรดประกอบด้วยสาร phytoestrogens, isoflavones lignans, phenolics กรดซิตริก กรดมาลิก วิตามิน และเอนไซม์บรอมีเลน (Chainok, 2018; Pongianta & Chansiw, 2019) ดังนั้นจึงได้ศึกษาอิทธิพลของสารอินทรีย์ ได้แก่ น้ำมะพร้าว น้ำสับปะรดคั้น และน้ำส้มคั้น ในสูตรอาหาร MS ที่มีผลต่อการแตกหน่อของชิ้นส่วนกล้วยน้ำไทในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งผลการวิจัยที่ได้จะสามารถใช้เป็นแนวทางในการขยายพันธุ์กล้วยน้ำไทได้ในอนาคต

วิธีดำเนินการวิจัย

นำหน่อกล้วยน้ำไทที่มีความสมบูรณ์และใบยังไม่แก่สีสูงประมาณ 25-30 เซนติเมตร ไปล้างทำความสะอาดด้วยน้ำเปล่า แล้วตัดแต่งหน่อพร้อมลอกกาบออก 2-3 กาบ ให้เหลือขนาด 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำชิ้นส่วนหน่อที่ผ่านการตัดแต่งไปฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นฟอกด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำชิ้นส่วนเข้าตู้ปลอดเชื้อ จากนั้นคั้นชิ้นส่วนล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อจำนวน 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที ตัดแต่งหน่อให้เหลือประมาณ 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วผ่าแบ่งหน่อตามยาวออกเป็น 4 ชิ้น และนำไปวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ดังนี้ 1) ไม่เติมสารอินทรีย์ 2) เติมน้ำมะพร้าวความเข้มข้น 200 มิลลิลิตรต่อลิตร 3) เติมน้ำสับปะรดคั้นความเข้มข้น 200 มิลลิลิตรต่อลิตร และ 4) เติมน้ำส้มคั้นความเข้มข้น 200 มิลลิลิตรต่อลิตร จากนั้นนำขวดชิ้นส่วนไปเพาะเลี้ยงในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิระหว่าง 25-28 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,500-3,000 ลักซ์ ความชื้นสัมพัทธ์ 60-80 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน และทำการย้ายเลี้ยงโดยเปลี่ยนอาหารใหม่ทุกเดือน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) แต่ละการทดลองทำ 7 ซ้ำ ๆ ละ 1 ชิ้น โดยบันทึกข้อมูลจำนวนหน่อด้วยการนับหน่อที่แตกใหม่ต่อชิ้นส่วนเดิม ความสูงหน่อวัดจากโคนต้นจนถึงปลายยอด จำนวนใบนับใบที่แผ่ออกทั้งหมดของต้นอ่อน ความกว้างใบวัดในตำแหน่งกึ่งกลางใบที่กว้างที่สุด (ใบที่ 2 จากยอด) และความยาวใบวัดจากโคนใบจนถึงปลายใบ (ใบที่ 2 จากยอด) โดยนำข้อมูลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบความ

แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วยวิธีของ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ผลการวิจัย

จากการศึกษาอิทธิพลของสารอินทรีย์ต่อการแตกหน่อของกล้วยน้ำไท โดยเฉพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว น้ำสับปะรดคั้น และน้ำส้มคั้น ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน พบว่า สูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าวให้ผลดีที่สุดในทุกด้าน ซึ่งให้จำนวนหน่อเฉลี่ย 1.71 หน่อ ความสูงหน่อเฉลี่ย 4.25 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ย 4 ใบต่อต้น ความกว้างและความยาวใบเฉลี่ย 1.01 และ 2.38 เซนติเมตร รองลงมาคือ น้ำสับปะรดคั้น ให้จำนวนหน่อเฉลี่ย 0.85 หน่อ ความสูงหน่อเฉลี่ย 1.31 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ย 0.64 ใบต่อต้น ความกว้างและความยาวใบเฉลี่ย 0.22 และ 0.44 เซนติเมตร และน้ำส้มคั้น ให้จำนวนหน่อเฉลี่ย 0.57 หน่อ ความสูงหน่อเฉลี่ย 0.28 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนสูตรอาหารที่ไม่เติมสารอินทรีย์ ไม่มีการเจริญเติบโตในทุกด้าน ดังแสดงในตารางที่ 1 (Table 1)

Table 1 Effects of organic additives on multiple shoot formation of Klwai Nam Thai *in vitro* after culture for 4 months

Treatment	Number of shoots per explant	Shoot length (cm)	Number of leaf per explant	Width of leaf (cm)	Length of leaf (cm)
MS medium (Control)	0.00c ^{1/}	0.00d	0.00c ^{1/}	0.00c	0.00c
MS medium + Coconut water	1.71a	4.25a	4.00a	1.01a	2.38a
MS medium + Pineapple juice	0.85b	1.31b	0.64b	0.22b	0.44b
MS medium + Orange juice	0.57b	0.28c	0.00c	0.00c	0.00c
F-test	**	**	**	**	**
C.V. (%)	36.68	4.30	10.51	10.00	4.38

Remark 1/ Mean values followed by different letters in each column are significantly different according to F-test and DMRT.

** Significant difference at $p < 0.01$ level.

ลักษณะการเจริญเติบโตของหน่ออ่อนกล้วยน้ำไทที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติมสารอินทรีย์แตกต่างกัน เป็นเวลา 4 เดือน พบว่าสูตรอาหาร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้หน่ออ่อนกล้วยที่สมบูรณ์ และแข็งแรงที่สุด ส่วนสูตรอาหาร MS ที่ไม่เติมสารอินทรีย์ พบว่า ชิ้นส่วนเป็นสีดำและไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ดังแสดงในภาพที่ 1 (Figure 1)

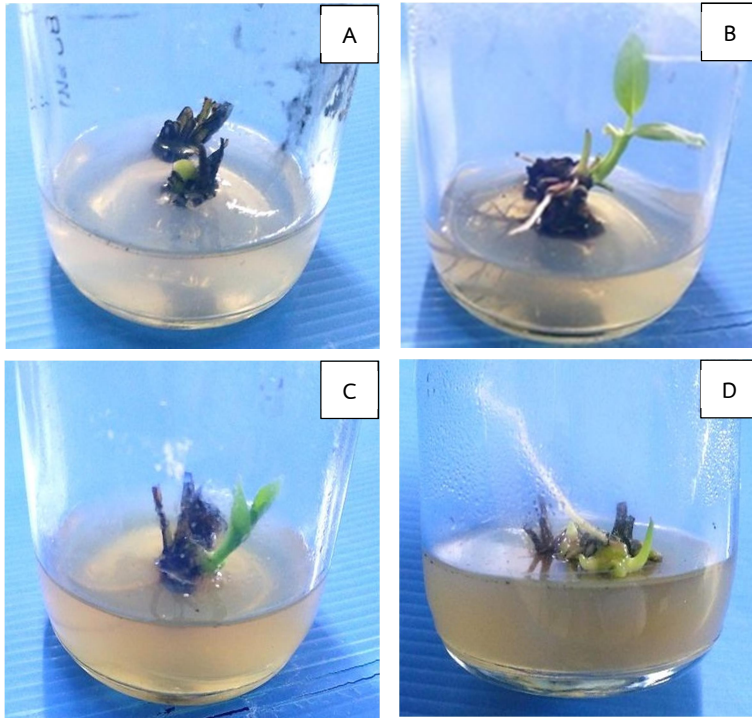


Figure 1 Effects of organic additives on multiple shoot formation of Klui Nam Thai *in vitro* after culture for 4 months

- | | |
|--------------------------------|------------------------------|
| A) MS Medium (Control) | B) MS Medium + Coconut water |
| C) MS Medium + Pineapple juice | D) MS Medium + Orange juice |

อภิปรายผล

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดกล้วยน้ำไทบนสูตรอาหาร MS เพื่อศึกษาอิทธิพลของสารอินทรีย์ความเข้มข้น 200 มิลลิลิตรต่อลิตร ต่อการแตกหน่อและการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนกล้วยน้ำไท พบว่า สูตรอาหาร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 200 มิลลิลิตรต่อลิตร ให้ผลดีที่สุด เนื่องจากในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีฮอร์โมนกลุ่มไซโตไคนินที่มีสารช่วยกระตุ้นการแตกหน่อและการแบ่งเซลล์ ซึ่ง Kruichuchep & Suppadit (2012) รายงานว่าในน้ำมะพร้าวมีสารประกอบ ได้แก่ วิตามิน กรดนิวคลีอิก ฟิวรีน น้ำตาล สารควบคุมการเจริญเติบโต และมีธาตุอาหารที่ชิ้นส่วนกล้วยต้องการในปริมาณที่เหมาะสม จึงส่งผลให้การแตกหน่อดีที่สุด สอดคล้องกับงานวิจัยของ DO et al. (2018) ได้ศึกษาผลของซิลเวอร์นาโน (Nano Silver) ในการเพาะเลี้ยงกล้วย (*Musa spp.*) โดยใช้สูตรอาหาร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร และ 6-Benzyladenine (BA) 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกล้วยในสภาพปลอดเชื้อ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 20 วัน พบว่า การใช้ น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร ร่วมกับซิลเวอร์นาโน 1 ส่วนในล้านส่วน (part per million: ppm) ให้การแตกหน่อดีที่สุด และ Boonmee (2007) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยน้ำว้า [*Musa* (ABB group)] และความแปรปรวนทางพันธุกรรม

โดยเฉพาะเลี้ยงบนสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว ร่วมกับ BA พบว่า การใช้น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร ให้ผลดีที่สุดในด้านความสูงต้น และน้ำหนักของ ต้นสด ส่วนสูตรที่เติมน้ำสับปะรดคั้นและน้ำส้มคั้น ให้ผลการแตกหน่อและการเจริญเติบโตรองลงมา ตามลำดับ นอกจากนี้ Thejaswini & Narasimhan (2017) ยังได้ศึกษาสารอินทรีย์ที่มีผลต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium Ovatum* (Willd.)) ในสภาพปลอดเชื้อ โดยเติมน้ำมะพร้าว น้ำอินทผลัม น้ำมะเขือเทศ และน้ำสับปะรด ในสูตรอาหาร MS ความเข้มข้น 1, 10, 15, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ พบว่า การใช้ น้ำสับปะรดความเข้มข้นระหว่าง 10-20 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลตอบสนองดีต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้สกุลหวายใกล้เคียงกัน ทั้งนี้ผู้สนใจสามารถนำข้อมูลการวิจัยไปเป็นแนวทางประยุกต์ใช้ในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงสำหรับขยายพันธุ์กล้วยไม้เพื่อต่อยอดงานวิจัยได้ในอนาคต

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาอิทธิพลของสารอินทรีย์ต่อการแตกหน่อของกล้วยน้ำไท บนสูตรอาหาร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว น้ำสับปะรดคั้น และน้ำส้มคั้น ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน พบว่า ให้ผลในด้านการแตกหน่อและการเจริญเติบโตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) โดยสูตรอาหารที่เติมน้ำมะพร้าว 200 มิลลิลิตรต่อลิตร ให้ลักษณะของหน่ออ่อนที่สมบูรณ์ แข็งแรง และสามารถนำหน่ออ่อนไปเลี้ยงในสูตรอาหารเร่งรากเพื่อให้ได้ต้นสมบูรณ์ นำไปอนุบาลและปลูกลงดินได้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีการเกษตรและอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงครามที่สนับสนุนวัสดุและอุปกรณ์สำหรับการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Alfred O. Ubalua, Ahamefula I. Ikpeama, Onyinyechi D. Okeagu. Effect of different concentrations of orange juice for *in vitro* regeneration and multiplication of cocoyam (Taro). *American Journal of Plant Sciences*, 2015; 6: 2569-2575.
- Boonmee O. *Tissue Culture and Somaclonal Variation of Musa (ABB group) 'Kluai Nam Wa'*. Master of Science in Plant Science, Prince of Songkla University, 2007.
- Chainok K. *Pineapple: Healing fruit*. Faculty of Pharmacy Mahidol University. 2018. Available at: <https://pharmacy.mahidol.ac.th>. Accessed August 13, 2020.
- Do DG, Dang TK, Nguyen TH. et al. Effects of nano silver on the growth of banana (*Musa* spp.) cultured *in vitro*. *Journal of Vietnamese Environment*, 2018; 10(2): 92-98.
- Kanchanapoom K. *Plant Tissue Culture*. Bangkok: Chulalongkorn University Press, 2001.
- Kruichuchep A. Suppadit T. Utilizing bio extracted water from coconut water in each level as plant supplement for soybean plantation. *Journal of the Association of Researchers*. 2012; 17(1): 112-124.

- Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures: *Physiologia Plantarum*. 1962; 15: 473-497.
- Pongjanta A, Chansiw N. Anti-Inflammatory Effect of Nanglae and Phulae Pineapple Peel Extract. *Rajabhat Journal of Sciences, Humanities & Social Sciences*. 2019; 20(1): 90-96.
- Selakorn O, Sutaphan S, Phasinam K. et al. The Optimal Concentration of Coconut Water on Multiple Shoot Induction of *Musa* (AAA group) 'Kluai Nak' *In Vitro*, *YRU Journal of Science and Technology*. 2020; 5(1): 28-33.
- Silayoi B. *Banana*. Bangkok: Kasetsart University Press, 2015.
- Sriisaad A, Usuwan C. *Economic Banana Cultivation Guide*. Bangkok: Nakabooks, 2013.
- Thejaswini R, Narasimhan S. Undefined organic additives stimulates *in vitro* seed germination of *Dendrobium ovatum* (Willd.) kraenzl, a medicinal orchid. *International Journal of Pharma Medicine and Biological Sciences*. 2017; 6(1): 29-31.