

ผลของความเข้มข้นสูตรอาหารร่วมกับน้ำตาลซูโครสต่อการเก็บรักษาหน่ออ่อน
กล้วยไข่กำแพงเพชรในสภาพปลอดเชื้อ

EFFECT OF CULTURE MEDIA AND SUCROSE CONCENTRATIONS ON
IN VITRO YOUNG SHOOTS STORAGE OF *MUSA* (AA GROUP)
'KHAI KAMPHAENG PHET'

ธนากร วงษ์ศา^{1,*}, หนึ่งฤทัย จักรศรี¹ และ อนุปันท์ กงบังเกิด²
Thanakorn Wongs^{1,*}, Nuengruethai Jucksri¹ and Anupan Kongbangkerd²

¹โปรแกรมวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร

²หน่วยวิจัยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

¹Program in Biology, Faculty of Science and Technology, Kamphaeng Phet Rajabhat University

²Plant Tissue Culture Research Unit, Department of Biology, Faculty of Science, Naresuan University

Received: 3 March 2021

Accepted: 5 July 2021

บทคัดย่อ

จากการเลี้ยงชิ้นส่วนหน่ออ่อนกล้วยไข่กำแพงเพชรบนอาหารสูตร MS, ½ MS และ ¼ MS ร่วมกับน้ำตาลซูโครสปริมาณ 0, 10, 20 และ 30 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 24 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS และ ¼ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ให้อัตราการมีชีวิตของชิ้นส่วนหน่ออ่อนกล้วยไข่กำแพงเพชรสูงที่สุด 100% และเมื่อย้ายชิ้นส่วนหน่ออ่อนกล้วยไข่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ต่อเนื่องอีก 12 สัปดาห์ พบว่า หน่ออ่อนกล้วยไข่กำแพงเพชรที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS, ½ MS และ ¼ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร มีการเจริญพัฒนากลับเป็นยอดใหม่ ได้ดีที่สุดในคิดเป็น 20%

คำสำคัญ: กล้วยไข่กำแพงเพชร, ความเข้มข้นสูตรอาหาร, น้ำตาลซูโครส, การเจริญและพัฒนา

* ผู้ประสานงาน: ธนากร วงษ์ศา

อีเมล: thanakorn_wo@kpru.ac.th

Abstract

In vitro shoot tips of *Musa* (AA group) ‘Khai Kamphaeng Phet’ were cultured on MS, ½ MS and ¼ MS combined with various sucrose concentrations at 0, 10, 20 and 30 gram/litre for 24 weeks. The research found that the highest percentage of viability (100%) could be obtained on ½ MS and ¼ MS medium supplemented with 30 gram/lite of sucrose. The shoots were then subcultured onto MS medium without hormone for regeneration recovery testing for 12 weeks. The results revealed that the highest regeneration percentage (20%) could obtained in all MS, ½ MS and ¼ MS augmented with 30 gram/lite sucrose.

Keywords: *Musa* (AA group) ‘Khai Kamphaeng Phet’, culture media concentrations, sucrose, Growth and development

บทนำ

กล้วยไข่กำแพงเพชรจัดเป็นไม้ผลที่มีการปลูกและนำมาใช้ประโยชน์ในจังหวัดกำแพงเพชร ตั้งแต่อดีตราวปี พ.ศ. 2465 ต่อเนื่องมาจนถึงปัจจุบัน แต่ปัญหาสำคัญที่มีผลต่อการปลูกกล้วยไข่กำแพงเพชร คือ สภาพลมฟ้าอากาศที่แปรปรวน โดยเฉพาะเกิดลมพายุใน 2 ช่วงเวลาที่กล้วยไข่กำแพงเพชรมีการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นส่งผลให้ต้นหักและโคนล้ม และช่วงที่กล้วยไข่อยู่ในระยะกำลังตกเครือซึ่งเป็นช่วงที่กล้วยไข่กำลังสร้างผลผลิต ทำให้เกิดความเสียหายต่อการปลูกและผลผลิตของกล้วยไข่เป็นประจำทุกปี (สันติพงษ์ ศุภกิจเจริญ และคณะ, 2557) นอกจากนี้ ยังพบปัญหาการระบาดของโรคและแมลงบางชนิดในกล้วยไข่ในพื้นที่ปลูกของเกษตรกรอีกด้วย (กลุ่มกัญและสัตววิทยา, 2553) จึงเป็นเหตุให้การปลูกกล้วยไข่กำแพงเพชรของเกษตรกรลดลง และส่งผลให้พื้นที่ปลูกและผลผลิตลดลงไปตามลำดับ ถึงแม้ว่าจังหวัดกำแพงเพชรมีการจัดตั้งศูนย์รวบรวมสายพันธุ์กล้วยเฉลิมพระเกียรติ เพื่อปลูกรวบรวมเก็บรักษาสายพันธุ์กล้วยมากกว่า 150 สายพันธุ์ เป็นสายพันธุ์กล้วยที่มีความสำคัญทั้งในเชิงเชื้อพันธุ์กรรม และเชิงเศรษฐกิจและการเกษตร กล้วยไข่ที่ปลูกรวบรวมเก็บรักษาสายพันธุ์ไว้ในแปลงปลูกก็ยังคงประสบปัญหาवादภัย และการระบาดของโรคและแมลง

เช่นเดียวกับแปลงปลูกกล้วยไข่ของเกษตรกรเช่นกัน อีกทั้งการเก็บรักษาสายพันธุ์กล้วยไข่ทั่วไปโดยวิธีปลูกลงในแปลงปลูกต้องใช้พื้นที่และแรงงานคนจำนวนมาก ทำให้การจัดการมีความยุ่งยากซับซ้อนมากขึ้น และอาจส่งผลให้สายพันธุ์ของกล้วยไข่ที่ปลูกในพื้นที่จังหวัดกำแพงเพชรลดลงและมีแนวโน้มสูญหายไปจากพื้นที่จังหวัดกำแพงเพชร ดังนั้น การศึกษาเทคนิค และวิธีการในการเก็บรักษาสายพันธุ์กล้วยไข่ที่สามารถควบคุมปัจจัยแวดล้อมต่าง ๆ ได้ จึงเป็นวิธีการที่เหมาะสม วิธีการเก็บรักษาสายพันธุ์พืชที่สำคัญและมีประสิทธิภาพในปัจจุบันแนวทางหนึ่งคือ การเก็บรักษาสายพันธุ์พืชในสภาพปลอดเชื้อ (Engelmann, 1991; Imarhiagbe et al., 2016) วิธีการเก็บรักษาสายพันธุ์พืชในสภาพปลอดเชื้อมีข้อดีคือใช้พื้นที่น้อยในการเก็บรักษา ปลอดภัยจากเชื้อโรค และสามารถผลิตต้นพันธุ์เพื่อเพิ่มจำนวนให้ได้ปริมาณมากในระยะเวลาที่น้อยกว่าการแยกหน่อในวิธีการขยายพันธุ์แบบวิธีดั้งเดิม (Engelmann, 2009) วิธีการเก็บรักษาสายพันธุ์พืชในสภาพปลอดเชื่อนั้น มีทั้งการเก็บรักษาในระยะเวลาไม่นาน (Short term storage) การเก็บรักษาระยะปานกลาง (Medium term storage) และการเก็บรักษาในระยะยาว (Long term storage) (Rao, 2004; Engelmann, 2011) แต่ละรูปแบบนั้นดำเนินไปเพื่อให้พืชนั้นเจริญเติบโตช้า แต่ยังคงความมีชีวิตและรักษาพันธุกรรมไว้ได้โดยทั่วไปแล้ว วิธีเก็บรักษาสายพันธุ์พืชในสภาพปลอดเชื้อมักเริ่มจากการศึกษาการเก็บรักษาแบบ *in vitro* short term หรือ medium term storage โดยศึกษาปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการชะลอการเจริญเติบโต อาทิ การลดความเข้มข้นของธาตุอาหาร การเติมสารชะลอการเจริญเติบโต การลดอุณหภูมิและปริมาณของแสงให้น้อยลง เป็นต้น (Da Silva et al., 2018) การศึกษาปัจจัยบางประการที่มีผลต่อความสำเร็จในการเก็บรักษาสายพันธุ์พืชในสภาพปลอดเชื่อนั้น อาทิ การศึกษาผลของอุณหภูมิ (Carvalho et al., 2014) ผลของแสง (Benelli et al., 2012; Linjikhao et al., 2018a) และองค์ประกอบอาหาร ได้แก่ ความเข้มข้นของอาหาร (Linjikhao et al., 2018b) ปริมาณของน้ำตาล (Sintim & Acromah, 2015) และสารชะลอการเจริญเติบโต (Jarret, 1997; Huang et al., 2014) เป็นต้น สำหรับปัจจัยบางประการที่มีผลต่อการเก็บรักษาสายพันธุ์กล้วยในสภาพปลอดเชื่อนั้น มีรายงานการศึกษาผลของอุณหภูมิ (Banerjee & De Langhe, 1985) ผลของความแตกต่างทางจีโนมของกล้วยสายพันธุ์ต่าง ๆ (Van den Houwe et al., 1995) ชนิดของน้ำตาล (Madhulatha et al., 2006) ชนิดของน้ำตาลและสารพยาง (supporting agent) (Agrawal et al., 2010) แต่รายงานการศึกษาในกล้วยไข่ยังมีไม่มากนัก ดังนั้น งานวิจัยนี้จึง

มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลขององค์ประกอบของอาหารบางประการต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาของชิ้นส่วนหน่ออ่อนกล้วยไข่ในหลอดทดลอง สำหรับเป็นแนวทางในการเก็บรักษาพันธุ์กรรมกล้วยไข่อย่างง่ายและไม่ใช้ต้นทุนในการเก็บรักษามากเกินไป เพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนต่อไปในอนาคต

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การรวบรวมต้นพันธุ์ในการทดลอง โดยรวบรวมต้นพันธุ์กล้วยไข่สายพันธุ์กำแพงเพชร จากสวนกล้วยไข่จังหวัดกำแพงเพชรที่ได้รับการรับรองสายพันธุ์ที่เป็นสิ่งบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ จากกรมทรัพย์สินทางปัญญา ทำการคัดเลือกต้นกล้วยไข่ที่แข็งแรงและปราศจากโรค ระยะเวลาใบดาบมาใช้ในการทดลองต่อไป

2. การเตรียมชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไข่ โดยนำหน่อใบดาบมาตัดแต่งให้มีขนาดประมาณ 3 เซนติเมตร ล้างทำความสะอาดแล้วนำมาแช่ในสารละลายผสมป้องกันกำจัดเชื้อรา (Captan 1% + Cabendazim 1%) เป็นเวลา 30 นาที ฟอกฆ่าเชื้อผิวภายนอกชิ้นส่วน จากนั้นย้ายไปแช่ในสารละลายเอทานอล 95% เป็นเวลา 1 นาที แล้วย้ายไปแช่ในสารละลายคลอริกซ์ 15% (w/v) อีก 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ 4-5 ครั้ง ตัดแต่งชิ้นส่วนบริเวณปลายยอดและบริเวณฐานให้มีขนาดประมาณ 1.0 เซนติเมตร

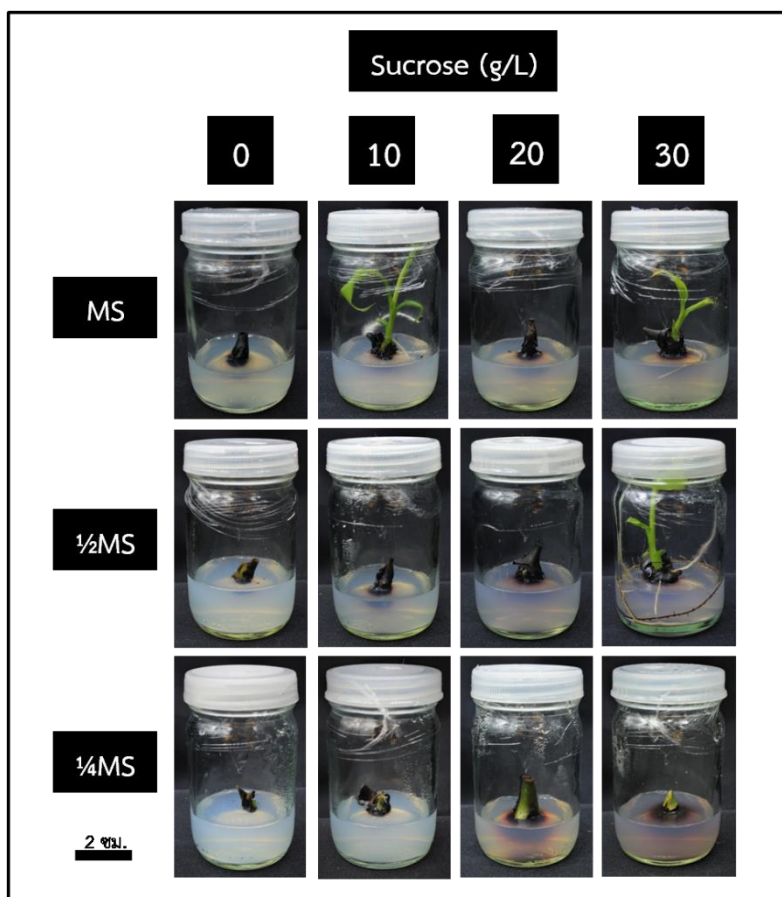
3. ผลของความเข้มข้นของธาตุอาหารร่วมกับน้ำตาลต่อการเจริญของหน่ออ่อนกล้วยไข่ โดยนำหน่ออ่อนกล้วยไข่ที่ตัดแต่งขนาดแล้วมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS (Murashige & Skoog, 1962) ที่แปรผันความเข้มข้นของธาตุอาหาร ได้แก่ MS, ½ MS และ ¼ MS ร่วมกับการเติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 0 10 20 และ 30 กรัมต่อลิตร ผงวุ้น 7.0 กรัมต่อลิตร ค่า pH เป็น 5.7 เลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 20 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที และบันทึกผลการอัตราการมีชีวิตของหน่ออ่อน หลังจากเพาะเลี้ยงไปแล้วทุก ๆ 6 สัปดาห์ จนครบ 24 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) มีการจัดสิ่งทดลองแบบ 3×4 Factorial in CRD แต่ละทรีตเมนต์เลี้ยงชิ้นส่วนทั้งหมด 10 ชิ้นส่วน (หน่วยทดลอง) และทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง หลังจากครบ 24 สัปดาห์ ย้ายชิ้นส่วนทุกทรีตเมนต์ลงเลี้ยงบนอาหารใหม่สูตร MS เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร โดยไม่เติมน้ำสารควบคุมการเจริญเติบโต เพื่อศึกษาการเจริญและพัฒนาออกกลับเป็นต้นใหม่

ของชิ้นส่วนหน่ออ่อนกล้วยไข่ที่ผ่านการเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ ที่แปรผันความเข้มข้นของธาตุอาหารรวมกับการเติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นต่าง ๆ มาแล้ว 24 สัปดาห์ เป็นระยะเวลาอีก 12 สัปดาห์

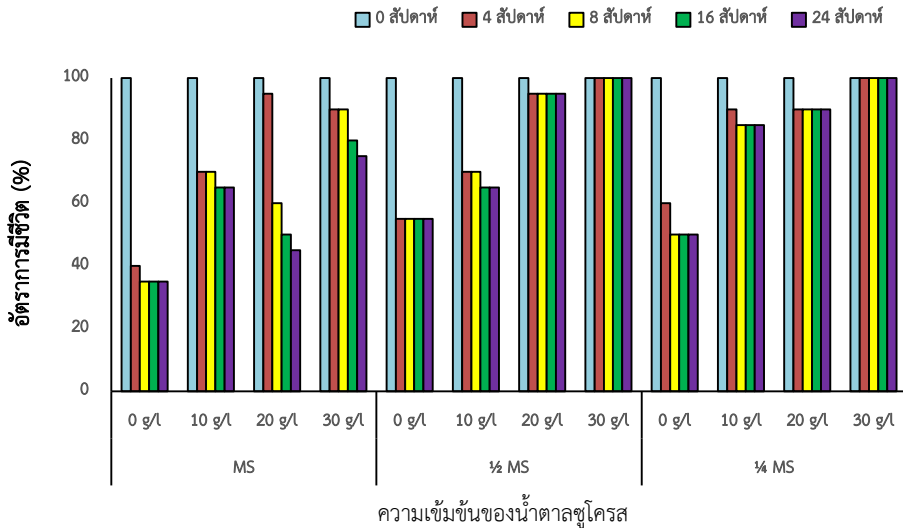
ผลการวิจัยและอภิปรายผล

การศึกษาผลขององค์ประกอบอาหารบางประการ ได้แก่ ความเข้มข้นของสูตรอาหารและปริมาณน้ำตาล ต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของหน่ออ่อนกล้วยไข่ ที่ตัดแยกออกมาจากหน่ออ่อนกล้วยไข่ที่นำมาฟอกฆ่าเชื้อและเข้าสู่กระบวนการเก็บรักษาพันธุ์กล้วยไข่กำแพงเพชรในสภาพปลอดเชื้อ นำหน่ออ่อนกล้วยไข่สายพันธุ์กำแพงเพชรมาเลี้ยงบนอาหารที่มีการแปรผันความเข้มข้นของสูตรอาหาร (MS, $\frac{1}{2}$ MS และ $\frac{1}{4}$ MS) ร่วมกับปริมาณน้ำตาลซูโครสที่แตกต่างกัน (0, 10, 20 และ 30 กรัมต่อลิตร) เมื่อพิจารณาเฉพาะความเข้มข้นของสูตรอาหารพบว่า เมื่อเวลาผ่านไปจาก 0, 4, 8, 16 และ 24 สัปดาห์ อาหารสูตร $\frac{1}{2}$ MS และ $\frac{1}{4}$ MS มีแนวโน้มของอัตราการมีชีวิตของหน่ออ่อนกล้วยไข่ที่เลี้ยงในสูตรอาหารทุกความเข้มข้นนั้นเพิ่มมากขึ้น และมีอัตราการมีชีวิตบนอาหาร $\frac{1}{2}$ MS, $\frac{1}{4}$ MS และ MS โดยเฉพาะในสูตรอาหารที่มีการเติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร คิดเป็นอัตราการมีชีวิต 100, 100 และ 75% ตามลำดับ (รูปที่ 1 และรูปที่ 2) อย่างไรก็ตาม จากรายงานการศึกษาผลความเข้มข้นของสูตรอาหาร MS (MS, $\frac{1}{2}$ MS และ $\frac{1}{4}$ MS) ต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของชิ้นส่วนปลายยอดของกล้วยคาเวนดิชแคระ (banana, cv. Dwarf Cavendish) ให้ผลในทางตรงกันข้ามโดยพบว่า เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดกล้วยคาเวนดิชแคระบนอาหารสูตร MS, $\frac{1}{2}$ MS และ $\frac{1}{4}$ MS นานขึ้น มีแนวโน้มทำให้อัตราการรอดชีวิตลดลงตามความเข้มข้นของสูตรอาหารที่ลดลงโดยลำดับ (Tokoporo et al., 2013) และจากผลการทดลองนี้ เมื่อปริมาณน้ำตาลซูโครสในสูตรอาหารเพิ่มมากขึ้น มีแนวโน้มทำให้อัตราการมีชีวิตของหน่ออ่อนกล้วยไข่เพิ่มมากขึ้นในสูตรอาหารทุกความเข้มข้น (MS, $\frac{1}{2}$ MS และ $\frac{1}{4}$ MS) อย่างไรก็ตาม เมื่อเวลาผ่านไปนานขึ้นส่งผลทำให้มีแนวโน้มของอัตราการมีชีวิตลดลง จนเมื่อเวลา 24 สัปดาห์ พบว่า สูตร $\frac{1}{2}$ MS และ $\frac{1}{4}$ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร มีชิ้นส่วนหน่ออ่อนกล้วยไข่มีอัตราการมีชีวิตสูงสุด 100% ในขณะที่สูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร มีอัตราการมีชีวิตลดลงเหลือเพียง 75% ซึ่งให้ผลในทำนองเดียวกับผลการทดลองของ Linjikao et al. (2019) ที่รายงานว่า ต้นอ่อนกล้วยไม้ *Vandopsis lissochiloides* ยังคงมีอัตราการรอดชีวิต

ดีที่สุด ในสูตรอาหารทุกความเข้มข้น ที่มีการเติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และรายงานการศึกษาผลของปริมาณน้ำตาลซูโครสต่ออัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนปลายยอด *Paulownia tomentosa* พบว่า อาหารที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร นั้น จะให้อัตราการรอดชีวิตของชิ้นส่วนปลายยอดในสภาพปลอดเชื้อสูงที่สุดด้วยเช่นกัน (El-Homosany and Noor EL-Deen, 2019)



รูปที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานของชิ้นส่วนหน่อกล้วยไข่ที่เลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ ที่เติมน้ำตาลความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 24 สัปดาห์ (สเกล = 2 เซนติเมตร)



รูปที่ 2 อัตราการมีชีวิตของชิ้นส่วนปลายยอดเมื่อเลี้ยงบนอาหาร MS ที่แปรผันระดับของความเข้มข้นอาหารร่วมกับความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส เป็นระยะเวลา 24 สัปดาห์

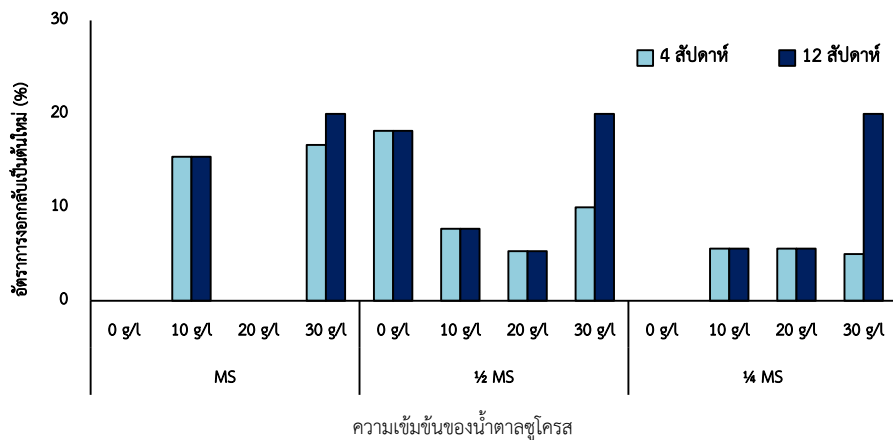
หลังจากเลี้ยงชิ้นส่วนหน่ออ่อนกล้วยไข่ลงบนอาหารที่แปรผันความเข้มข้นของสูตรอาหารร่วมกับปริมาณน้ำตาลซูโครสที่แตกต่างกัน จนครบ 24 สัปดาห์แล้ว ทำการย้ายชิ้นส่วนหน่ออ่อนกล้วยไข่ที่ยังมีชีวิตจากอาหารทุกสูตรดังกล่าว ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร โดยไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ต่อเนื่องอีกเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า เมื่อย้ายเลี้ยงหน่ออ่อนกล้วยไข่เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ชิ้นส่วนหน่อกล้วยไข่ที่มีสีน้ำตาลเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเขียวในอาหาร MS, 1/2 MS และ 1/4 MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 10 กรัมต่อลิตร และเมื่อเลี้ยง 2 สัปดาห์ ชิ้นส่วนสีเขียวนั้นเริ่มมีการแทงหน่ออ่อนขึ้นมาเป็นยอดใหม่ขนาดเล็กบนอาหาร MS, 1/2 MS และ 1/4 MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 10 กรัมต่อลิตร เช่นเดียวกัน โดยเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนครบ 4 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนที่มีสีน้ำตาลและเปลี่ยนแปลงไปเป็นสีเขียวนั้น เริ่มมีการงอกกลับเป็นหน่ออ่อนและพัฒนาเป็นยอดใหม่เพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะชิ้นส่วนที่ผ่านการเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมน้ำตาลมาก่อน ในขณะที่ชิ้นส่วนที่ผ่านการเลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมน้ำตาล 0 กรัมต่อลิตร พบว่า ชิ้นส่วนส่วนใหญ่ไม่เกิดการงอกกลับเป็นต้นใหม่ และยังคงเป็นสีน้ำตาล ซึ่งคาดว่าชิ้นส่วนดังกล่าวอาจตายและเมื่อเลี้ยงต่อเนื่องไปเรื่อย ๆ พบว่า อัตราการงอกกลับเป็นต้นใหม่ของชิ้นส่วนค่อย ๆ

เพิ่มมากขึ้น จนครบ 12 สัปดาห์ พบว่า ขึ้นส่วนที่ผ่านการเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และสูตร $\frac{1}{2}$ MS และสูตร $\frac{1}{4}$ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ให้อัตราการงอกกลับเป็นต้นใหม่สูงสุด 20% เท่ากัน ในขณะที่ขึ้นส่วนที่ผ่านการเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และสูตร $\frac{1}{4}$ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 0 กรัมต่อลิตร ไม่พบการงอกกลับเป็นต้นใหม่ของขึ้นส่วนแต่อย่างใด เช่นเดียวกับขึ้นส่วนที่ผ่านการเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร อีกด้วย (รูปที่ 3 และรูปที่ 4)

ขึ้นส่วนหน่อกล้วยไข่ที่ผ่านการเลี้ยงมาจากสูตรอาหารความเข้มข้นต่าง ๆ ที่เติมน้ำตาลซูโครสปริมาณในช่วง 10-20 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 1) แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่สูง (30 กรัมต่อลิตร) ส่งผลต่อสภาวะที่เรียกว่า osmotic stress และส่งผลให้ขึ้นส่วนหน่ออ่อนของกล้วยไข่มีการงอกกลับเป็นต้นใหม่ที่ค่อนข้างช้าและพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ช้ากว่าขึ้นส่วนหน่อกล้วยไข่ที่ผ่านการเลี้ยงมาจากสูตรอาหารที่เติมน้ำตาลซูโครสในปริมาณที่ต่ำกว่า (10-20 กรัมต่อลิตร) ซึ่ง Leila et al. (2017) ได้รายงานถึงผลของการชักนำให้อาหารเพาะเลี้ยงเกิด osmotic stress นั้นมีผลต่อการเจริญของขึ้นส่วนปลายยอดเพาะเลี้ยงกล้วยคาเวนดิชแคระ ซึ่งสภาวะของอาหารเพาะเลี้ยงที่มีการชักนำให้เกิด osmotic stress มากนั้น ส่งผลให้ปลายยอดเพาะเลี้ยงกล้วย 'Dwarf Cavendish' นั้นมีการเจริญได้ไม่ดี อีกทั้งในพืชอื่น ๆ ได้มีรายงานการศึกษาผลของชนิดและปริมาณน้ำตาลต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนสาคุและพบว่า การเพิ่มปริมาณน้ำตาลซูโครสในอาหารเพาะเลี้ยงส่งผลให้ลักษณะทางสัณฐานและความสมบูรณ์ของต้นอ่อนสาคุลดลง เนื่องมาจากเกิดสภาวะ osmotic stress ในอาหารเพาะเลี้ยงดังกล่าว (Simaryono et al., 2012) รวมไปถึงรายงานการศึกษาผลของน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาของต้นอ่อนอัฟริกันไวโอเล็ต (*Saintpaulia ionantha* Wendl.) ที่พบว่า การเพิ่มปริมาณน้ำตาลซูโครสในอาหารเพาะเลี้ยงส่งผลให้อัตราการเจริญที่วัดจากจำนวนต้น ความสูง และอัตราการเกิดรากใหม่นั้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Moges et al., 2003) และรายงานการศึกษาผลของน้ำตาลซูโครสต่อการเจริญและการพัฒนาการของแคลลัสข้าวสาลี พบว่า แคลลัสที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นสูงๆ จะเกิดสภาวะ osmotic stress ทำให้ลักษณะสัณฐานภายนอกเปลี่ยนแปลงไปและมีอัตราการเจริญเติบโตที่วัดจากน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งลดลง (Javed & Ikram, 2008)



รูปที่ 3 ต้นที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 12 สัปดาห์



รูปที่ 4 อัตราการออกกลับเป็นต้นใหม่ของชิ้นส่วนหน่อกล้วยไข่ที่บนอาหาร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 12 สัปดาห์

สรุปผลการวิจัย

จากผลการศึกษาสามารถสรุปได้ว่า อาหารสูตร ½ MS และ ¼ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ให้อัตราการมีชีวิตของชิ้นส่วนหน่ออ่อนกล้วยไข่สูงที่สุด เมื่อเวลาผ่านไป 24 สัปดาห์ และเมื่อย้ายชิ้นส่วนหน่ออ่อนกล้วยไข่ลงเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า หน่ออ่อนกล้วยไข่ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS, ½ MS และ ¼ MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร มีการเจริญพัฒนางอกกลับเป็นยอดใหม่ได้ดีที่สุดเท่ากัน ในการศึกษาในครั้งนี้สามารถประยุกต์สภาวะที่เหมาะสมจากการทดลองสำหรับเก็บรักษาพันธุ์กรรมหน่ออ่อนกล้วยไข่ในระยะปานกลาง (medium term storage) เพื่อการใช้ประโยชน์อย่างยั่งยืนในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ที่สนับสนุนงบประมาณแผ่นดิน ปี 2561 และขอขอบคุณนางสาวอณรรัตน์ อิ่นมะโน ที่ได้ช่วยเหลืองานด้านต่าง ๆ ของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มกีฏและสัตววิทยา. (2553). *คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและศัตรูพืชปี 2553*.

เอกสารวิชาการเกษตร. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 63 หน้า.

สันติพงษ์ ศุภกิจเจริญ, ธเนศ ศรีวิชัยลำพันธ์, และ กาญจนา โชคถาวร. (2557). ปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับการปลูกกล้วยไข่ของเกษตรกรในจังหวัดกำแพงเพชร. *สัปดาห์ : วารสารมนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์*, 20(3), 1-9.

Agrawal, A., Sanayaima, R., Tandon, R., & Tyagi, R. K. (2010). Cost-effective *in vitro* conservation of banana using alternatives of gelling agent (isabgol) and carbon source (market sugar). *Acta Physiologia Plantarum*, 32, 703–711.

- Banerjee, N., & De Langhe, E. (1985). A tissue culture technique for rapid clonal propagation and storage under minimal growth conditions of *Musa* (banana and plantain). *Plant Cell Reports*, 4, 351-354.
- Benelli, C., Ozudogru, E. A., Lambardi, M., & Dradi, G. (2012). *In vitro* conservation of ornamental plants by slow growth storage. *Acta Horticulturae*, 961, 89-93.
- Carvalho, V., Santos, D. S., & Nievola, C. C. (2014). *In vitro* storage under slow growth and ex vitro acclimatization of the ornamental bromeliad *Acanthostachys strobilacea*. *South African Journal of Botany*, 92, 39-43.
- Da Silva, D. P. C., Ozudogru, E. A., Reis, M. V. D., & Lambardi, M. (2018). *In vitro* conservation of ornamental plants. *Ornamental Horticulture*, 2(4), 28-33.
- El-Homosany, A. A., & Noor El-Deen, T. M. (2019). *In vitro* storage of *Paulownia tomentosa*. *Scientific Journal of Flowers and Ornamental Plants*, 6(3), 139-149.
- Engelmann, F. (1991). *In vitro* conservation of horticultural species. *Acta Horticulturae*, 298, 327-332.
- Engelmann, F. (2009). Use of biotechnologies for conserving plant biodiversity. *Acta Horticulturae*, 812, 63-82.
- Engelmann, F. (2011). Use of biotechnologies for the conservation of plant biodiversity. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 45, 5-16.
- Huang, H. P., Wang, J., Huang, L. Q., Gao, S. L., Huang, P., & Wang, D. L. (2014). Germplasm preservation *in vitro* of *Polygonum multiflorum* Thunb. *Pharmacognosy Magazine*, 10(38), 179-184.
- Imarhiagbe, O., Osazee, J. O., Aiwansoba, R. O., & Shittu, O. H. (2016). *In vitro* germplasm collection and storage: A review. *International Journal of Biology Research*, 1(1), 9-14.

- Jarret, R. L. (1997). Effects of chemical growth retardants on growth and development of sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) *in vitro*. *Journal of Plant Growth Regulation*, 16, 227-231.
- Javed, F., & Ikram, S. (2008). Effect of sucrose induced osmotic stress on callus growth and biochemical aspects of two wheat genotypes. *Pakistan Journal of Botany*, 40(4), 1487-1495.
- Leila, S., Ali, S., & Esmail, A. M. (2017). Improvement of shoot-tip culture proliferation in banana using PEG6000. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 7(3), 2105-2111.
- Linjikhao, J., Inthima, P., & Kongbangkerd, A. (2018a). Effect of medium components and light on growth and development of *in vitro* *Vandopsis lissochiloides* (Gaudich.) Pfitz. Seedlings. In: Proceedings of The International Conference on Agriculture and Natural Resources 2018 (ANRES 2018). April 26–28, 2018. The Hotel Windsor Suites & Convention. p.3-6.
- Linjikhao, J., Inthima, P., & Kongbangkerd, A. (2018b). Effect of different media and mannitol concentrations on growth and development of *Vandopsis lissochiloides* (Gaudich) Pfitz. under slow growth conditions. In: Proceedings of the 20th International Conference on Plant Biology and Plant Sciences. November 12-13, 2018, Tokyo, Japan. p.383-387.
- Linjikhao, J., Inthima, P., & Kongbangkerd, A. (2019). Effect of different media and mannitol concentrations on growth and development of *Vandopsis lissochiloides* (Gaudich.) Pfitz. under slow growth conditions. *World Academy of Science, Engineering and Technology – International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering*, 13(6), 177-182.
- Madhulatha, P., Kirubakaran, S. I., & Sakthivel, N. (2006). Effects of carbon sources and auxins on *in vitro* propagation of banana. *Biologia Plantarum*, 50(4), 782-784.

- Moges, A. D., Karam, N. S., & Shibli, R. A. (2003). Slow growth in vitro preservation of African violet (*Saintpaulia ionantha* Wendl.). *Advances in Horticultural Science*, 17(4), 223-230.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497.
- Rao, N. K. (2004). Plant genetic resources: advancing conservation and use through biotechnology. *African Journal of Biotechnology*, 3, 136-145.
- Simaryono, Muslihatin, W., & Ratnadewi, D. (2012). Effect of carbohydrate source on growth and performance of *in vitro* sago palm (*Metroxylon sagu* Rottb.) plantlets. *HAYATI Journal of Biosciences*, 19(2), 88-92.
- Sintim, H. Y., & Acromah, R. (2015). Differing sucrose requirements for in-vitro conservation of cassava genotypes. *International Journal of Plant and Soil Science*, 7(1), 45-54.
- Tokoporo, G. L., Elhassan, A. A., & Ali, M. A. (2013). Effect of nutrient medium concentration and temperature on short-term *in vitro* conservation of shoot-tip explants of banana. *Journal of Natural Resources and Environmental Studies*, 1, 37-40.
- Van den Houwe, I., De Smet, K., Tezenas du Montcel, H., & Swennen, R. (1995). Variability in storage potential of banana shoot cultures under medium term storage conditions. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 42, 267-274.