

ผลของโซเดียมไฮโปคลอไรต์ต่อการฟอกฆ่าเชื้อ และการชักนำยอด ของต้นอ่อนกล้วยหอมทองในสภาพปลอดเชื้อ

Effect of Sodium Hypochlorite on Sterilization and Shoot Induction of *In Vitro* Gros Michel

อภिरยา เทพสุคนธ์* ปรรธนา หมิดเสน และ บรรจง อุปแก้ว

Apiraya Thepsukhon*, Prathana Meadsen and Bunjong Oupkaew

Received: 29 June 2022, Revised: 7 October 2022, Accepted: 9 November 2022

บทคัดย่อ

กล้วยหอมทองเป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จัดเป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของไทย โดยทั่วไปการขยายพันธุ์นิยมการใช้หน่อ และสามารถเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มจำนวนต้นพันธุ์ที่ปลอดโรค และมีความสม่ำเสมอของสายพันธุ์ได้ งานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง ได้แก่ การทดลองที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นของโซเดียมไฮโปคลอไรต์ (NaOCl) ที่แตกต่างกันต่อการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของหน่อกล้วยหอมทอง โดยกรรมวิธีที่ 1 NaOCl 10 % ตามด้วย 5 % กรรมวิธีที่ 2 NaOCl 20 % ตามด้วย 10 % และกรรมวิธีที่ 3 NaOCl 30 % ตามด้วย 20 % สำหรับการทดลองที่ 2 ศึกษาผลของเบนซิลอะดีนีน (BA) ต่อการชักนำการเกิดยอดของต้นอ่อนกล้วยหอมทองบนอาหารสังเคราะห์ Murashige and Skoog (MS) 4 ความเข้มข้น ได้แก่ 0, 2.5, 5.0 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ผลการทดลองพบว่า NaOCl ความเข้มข้น 30 % ตามด้วย 20 % ให้การรอดชีวิต (100%) ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับความเข้มข้น 20 % ตามด้วย 10 % (91.67%) หลังจากเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS เป็นเวลา 1 เดือน สำหรับความเข้มข้นของ BA พบว่า การไม่เติม BA ทำให้ต้นอ่อนมีการเจริญเติบโตทางลำต้นดีที่สุด แต่ไม่พบการเกิดยอดรวม หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน โดยมีความสูงต้น ความยาวใบ ความกว้างใบ และความยาวราก 6.60, 5.82, 2.47 และ 11.27 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วน BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำการเกิดยอดใหม่ได้สูงที่สุด 4 ยอด หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน

คำสำคัญ: กล้วยหอมทอง, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช, การฟอกฆ่าเชื้อ, เบนซิลอะดีนีน, การเกิดยอดรวม

ABSTRACT

Musa acuminata cv. Gros Michel is originated from the Southeast Asia region. It is considered as an economically important fruit tree in Thailand. The suckers are commonly used for propagation and plant tissue culture for increasing new pathogen-free plants and genetic uniformity. This research was divided into 2 experiments. The first experiment investigated the effectiveness of different concentrations of sodium hypochlorite on surface sterilization of sucker including treatment 1 10 % NaOCl followed by 5 %, treatment 2 20 % NaOCl followed by 10 % and treatment 3 30 % NaOCl followed by 20 %. The second experiment examined 4 concentration levels of BA at 0, 2.5, 5.0, and 7.5 mg/l. The results revealed that NaOCl at 30% followed by 20% showed no statistically significant difference in survival (100%) compared to NaOCl at 20% followed by 10% (91.67%) after one month of cultivation on MS medium. In experiment 2, at 0 mg/l BA showed the best growth in terms of plant height, leaf length, leaf width, and root length at 6.60, 5.82, 2.47, and 11.27 cm, respectively after three months of cultivation. However, multiple shoot formation was not obtained after culturing for 3 months. The culture medium with 5 mg/l BA could induce multiple shoots, with the observation of four new shoots after culturing for three months.

Key words: *Musa acuminata*, plant tissue culture, sterilization, benzyladenine, multiple shoot induction

บทนำ

กล้วยหอมทอง (*Musa acuminata*) หรือ Gros Michel banana เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีอายุหลายปี จัดเป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย นิยมบริโภคผลกันแพร่หลาย สามารถปลูกและเจริญเติบโตได้ดีทั่วทุกภาคของประเทศไทย สามารถส่งออกจำหน่ายยังต่างประเทศได้เป็นจำนวนมาก (Silayoi, 2015) โดยในปี 2564 มีปริมาณการส่งออก 7,118.2 ตัน คิดเป็นมูลค่าการส่งออกจำนวน 222.45 ล้านบาท (Office of Agricultural Economics, 2022) ปกติการปลูกกล้วยจะนิยมใช้หน่อ แต่การจะได้หน่อใหม่เป็นต้นแม่พันธุ์จะต้องใช้ระยะเวลานานในการขยายพันธุ์ และต้องใช้ต้นแม่พันธุ์เป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ หน่อใหม่ที่ได้จะมีการเจริญเติบโตไม่สม่ำเสมอ จึงประสบปัญหาการเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ไม่พร้อมกัน ทำให้ส่งผลต่อการ

จำหน่ายผลผลิตทั้งในประเทศและต่างประเทศ ดังนั้น การใช้ต้นพันธุ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะทำให้ได้ต้นใหม่จำนวนมากที่ตรงตามสายพันธุ์ ต้นที่ได้มีความสม่ำเสมอ ปราศจากแมลงศัตรูพืช และโรคพืช (Daungban *et al.*, 2017; Dechpala *et al.*, 2019)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเทคนิคการขยายพันธุ์พืชแบบไม่อาศัยเพศ โดยการนำชิ้นส่วนต่าง ๆ ของพืชมาทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ในสภาพปลอดเชื้อ ปกติในธรรมชาติส่วนต่าง ๆ ของพืชที่เจริญเติบโตจะมีเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ ติดอยู่ที่ผิวของพืชด้วย ดังนั้น ขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวของชิ้นส่วน จึงเป็นขั้นตอนสำคัญที่จะเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนได้สำเร็จ (Goswami and Handique, 2013) การใช้ความเข้มข้นของสารละลายฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดของต้นพันธุ์ และชิ้นส่วนที่จะนำมาฟอกฆ่าเชื้อที่อาจจะมีการ

ปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์แตกต่างกัน (Pirela *et al.*, 2020) ดัชนีพันธุ์ในธรรมชาติที่ปลูกในดินจะมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ มากกว่าดัชนีพันธุ์ปลูกแบบไม่ใช้ดิน (Mahawan *et al.*, 2012) โดยทั่วไปการฟอกฆ่าเชื้อขึ้นส่วนของพืชนิยมใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite; NaOCl) เนื่องจากมีประสิทธิภาพการฆ่าเชื้อได้ดี ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม และมีราคาไม่แพง (Dumani *et al.*, 2007; Zand *et al.*, 2012; Pais *et al.*, 2016) จากการศึกษาการใช้ NaOCl ในการฟอกฆ่าเชื้อของหน่อกล้วยชนิดต่าง ๆ พบว่ามีการใช้ NaOCl ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาในการฟอกที่แตกต่างกัน เช่น การใช้ NaOCl 30 % แช่ 30 นาที ตามด้วย NaOCl 15 % แช่ 30 นาที (Hannarong, 2013) การใช้ NaOCl 15 % แช่ 20 นาที ตามด้วย NaOCl 5 % แช่ 5 นาที (Sudhanyaratana *et al.*, 2016) และการใช้ NaOCl 10 % แช่ 20 นาที ตามด้วย NaOCl 5 % แช่ 10 นาที (Dechpala *et al.*, 2019) เป็นต้น จากการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อที่กล่าวมาข้างต้นทำให้ทราบว่า การใช้ความเข้มข้นและระยะเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อที่แตกต่างกันจะส่งผลต่อการปนเปื้อนของขึ้นส่วนที่จะนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และอัตราการรอดชีวิตที่แตกต่างกันด้วย ซึ่งการใช้ความเข้มข้นของ NaOCl ที่เหมาะสมกับขึ้นส่วนของกล้วยแต่ละชนิดจึงจำเป็นต้องมีศึกษาให้แน่ชัด เพื่อไม่ให้ NaOCl ในปริมาณมากเกินไปจนเกิดความจำเป็น ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อต้นทุนการผลิต

ปัจจุบันสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth regulator) กลุ่มไซโตไคนินสังเคราะห์มีหลายชนิด เช่น เบนซิลอะดีนีน (benzyladenine; BA), ไทเดิซุรอน (thidiazuron; TDZ) และ ไคเนติน (kinetin) เป็นต้น นิยมนำมาใช้ในการชักนำการเกิดยอดรวมของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช โดยบทบาทของไซโตไคนินจะส่งผลต่อการเจริญเติบโตของตา

ข้าง และชักนำการเกิดยอดใหม่ได้ดี แต่จะลดการเจริญเติบโตในส่วนของคุณตาเจริญปลายยอด (Jafari *et al.*, 2011) ช่วยในการแบ่งเซลล์และสร้างยอดจากตาข้างได้อย่างรวดเร็ว ช่วยเพิ่มจำนวนยอดและการเจริญของยอด แต่การตอบสนองของไซโตไคนินแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับพันธุ์กรรมของพืชนั้นด้วย (Techapinyawat, 2005) จากการศึกษาชนิดของไซโตไคนินต่อการตอบสนองการเจริญเติบโตของพืชพบว่าการใช้ TDZ จะต้องใช้ที่ความเข้มข้นต่ำ ส่วนการใช้ BA จะต้องใช้ที่ความเข้มข้นสูง (Gubbuk and Pekmezci, 2006) นอกจากนี้ยังพบว่า BA ให้การตอบสนองต่อการเจริญเติบโตของพืชได้ดีกว่าไซโตไคนินชนิดอื่น (Chuengpanya *et al.*, 2022) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาความเข้มข้นของ NaOCl ที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของหน่อกล้วยหอมทอง และความเข้มข้นของ BA ที่แตกต่างกันต่อการชักนำการเกิดยอดของต้นกล้วยหอมทองในสภาพปลอดเชื้อ

วิธีดำเนินการวิจัย

การทดลองที่ 1 ศึกษาความเข้มข้นของ NaOCl ต่อการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของหน่อกล้วยหอมทอง

เก็บตัวอย่างหน่อกล้วยหอมทองจากสวนกล้วยหอมทอง หมู่บ้านแวนโคง อ.เขียงคำ จ.พะเยา นำหน่อกล้วยหอมทองระยะใบดาบมาล้างทำความสะอาด ลอกกาบใบออก 3-4 กาบใบ นำขึ้นส่วนมาตัดแต่งให้มีความยาวประมาณ 6 เซนติเมตร โดยขึ้นส่วนที่นำไปฟอกต้องเป็นส่วนที่ติดกับลำต้นใต้ดิน ทำการลอกกาบใบออกจนเหลือประมาณ 5 กาบใบ จากนั้นนำมาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวโดยเตรียมจากสารละลายเข้มข้น NaOCl 10% แล้วนำมาเจือจางตามกรรมวิธีที่กำหนด โดยกรรมวิธีที่ 1 NaOCl 10 % แช่เป็นเวลา 20 นาที ตามด้วย 5 % แช่เป็นเวลา 10 นาที กรรมวิธีที่ 2 NaOCl 20 % แช่เป็นเวลา 20 นาที ตามด้วย 10 %

เขย่าเป็นเวลา 10 นาที และกรรมวิธีที่ 3 NaOCl 30 % เขย่าเป็นเวลา 20 นาที ตามด้วย 20 % เขย่าเป็นเวลา 10 นาที โดยทุกขวดเติมสารลดแรงตึงผิว Tween 20 ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อ 100 มิลลิลิตร แล้วนำมาล้างน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที จากนั้นนำชิ้นส่วนมาตัดแต่งโดยการลอกกาบใบออก 2-3 กาบใบ จนชิ้นส่วนมีขนาดความกว้าง 2 เซนติเมตร และมีความยาว 3 เซนติเมตร ตัดเนื้อเยื่อผ่านจุดเจริญปลายยอดให้ได้ 4 ชิ้นส่วนต่อหน่อ นำแต่ละชิ้นส่วนไปวางเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ปราศจากการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต วางเลี้ยงในห้องที่มีการควบคุมแสงสว่างจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ นาน 14 ชั่วโมงต่อวัน และควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) จำนวน 4 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ชิ้นส่วน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน ทำการเก็บบันทึกข้อมูลเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อรา และ เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Least significant difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของความเข้มข้นของ BA ต่อการชักนำยอดรวมและการเจริญเติบโตของต้น

คัดเลือกต้นอ่อนกล้วยหอมทองที่เพาะเลี้ยงในขวดบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่มีอายุ 2 เดือน มีความสูงประมาณ 3 เซนติเมตร มาเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 2.5, 5.0 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร วางเลี้ยงในห้องที่มีการควบคุมแสงสว่างจากหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์แสงสีขาวที่ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ นาน 14 ชั่วโมงต่อวัน และควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ชิ้นส่วน เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน ทำการเก็บ

ข้อมูลความสูงต้น ความยาวใบ ความกว้างใบ จำนวนใบ ขนาดทรงพุ่ม ความยาวราก จำนวนราก และจำนวนหน่อ เปรียบเทียบผลค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี LSD ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

การทดลองที่ 1 ผลความเข้มข้นของ NaOCl ต่อการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของหน่อกล้วยหอมทอง

หลังจากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนหน่อที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย NaOCl ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต และ เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อราของชิ้นส่วนที่ศึกษา มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วน เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียของชิ้นส่วนที่ศึกษาไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1) การใช้สารละลาย NaOCl เข้มข้น 30, 20 และ 10 % เขย่าเป็นเวลา 20 นาที ตามด้วย สารละลาย NaOCl 20, 10 และ 5 % เขย่าเป็นเวลา 10 นาที ให้การรอดชีวิต 100, 91.67 และ 66.67% และมีการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรีย 0, 8.33 และ 8.33% ตามลำดับ (ตารางที่ 1 และภาพที่ 1 (ก)-(ค)) สอดคล้องกับงานทดลองของ Hannarong (2013) ที่ใช้สารละลาย NaOCl 30 % เขย่าเป็นเวลา 30 นาที ตามด้วย สารละลาย NaOCl 15 % เขย่าเป็นเวลา 30 นาที พบการรอดชีวิตของชิ้นส่วนสูงที่สุด เท่ากับ 100% จากการเปรียบเทียบการฟอกฆ่าเชื้อของข้อมันเหน็บด้วยไฮเตอร์ที่มีส่วนประกอบของ NaOCl 6 % พบว่าการใช้ไฮเตอร์ที่ความเข้มข้น 15 % เป็นเวลา 15 นาที ตามด้วยไฮเตอร์ 10 % เป็นเวลา 10 นาที ทำให้ชิ้นส่วนมีการรอดชีวิตและปลอดเชื้อ 100 % รองลงมาได้แก่การใช้ไฮเตอร์ที่ความเข้มข้น 10 % เป็นเวลา 15 นาที ตามด้วยไฮเตอร์ 5 % เป็นเวลา 10 นาที ทำให้ชิ้นส่วนมีการรอดชีวิตและปลอดเชื้อ 90 %

ตามลำดับ ส่วนการใช้ไฮเตอร์ที่ความเข้มข้น 20 % เป็นเวลา 15 นาที ตามด้วยไฮเตอร์ 15 % เป็นเวลา 10 นาที ทำให้ชิ้นส่วนมีปลอดเชื้อ 100 % แต่มีการรอดชีวิตเพียง 30 % (Sookruksawong, 2022) จากงานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่า ชนิดของชิ้นส่วนพืช ความเข้มข้นของ NaOCl และระยะเวลาที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อที่มีผลต่อการรอดชีวิตของชิ้นส่วนและการปลอดเชื้อ การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนจำนวน 2 ครั้ง จะมีโอกาสทำให้ชิ้นส่วนปลอดเชื้อได้มากขึ้น แต่ควรคำนึงถึงชนิดของชิ้นส่วน เพราะมีความสำคัญในการฟอกฆ่าเชื้อ โดยชิ้นส่วนที่หนาหรือแข็งอาจใช้ความเข้มข้นของ NaOCl ที่สูงและใช้เวลาในการฟอกฆ่าเชื้อมานานได้ ซึ่งความเข้มข้นของ NaOCl ที่เหมาะสมจึงขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและชิ้นส่วน

เนื่องจากพืชแต่ละชนิดมีความทนทานต่อ NaOCl ที่แตกต่างกัน ซึ่งในการทดลองนี้ใช้ NaOCl 30 % เป็นเวลา 20 นาที ตามด้วย NaOCl 20 % เป็นเวลา 10 นาที ในการฟอกฆ่าเชื้อหน่อกล้วยหอมทอง ถือว่าเป็นความเข้มข้นที่สูง แต่เนื่องด้วยลักษณะชิ้นส่วนที่นำมาทำการฟอกฆ่าเชื้อมีโคนกาบใบห่อหุ้มอยู่หนาหลายชั้น จึงไม่ทำลายเนื้อเยื่อและจุดเจริญตาข้างของหน่อกล้วยหอมทอง ทำให้ชิ้นส่วนมีการรอดชีวิตทั้งหมด แต่หากใช้ NaOCl ที่ความเข้มข้นมากกว่า 30 % ก็อาจจะทำให้ได้ชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อได้เช่นกัน แต่อาจเกิดการตายของเนื้อเยื่อชิ้นส่วนที่ฟอกส่งผลให้การรอดชีวิตลดลง นอกจากนี้ทำให้สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายการฟอกฆ่าเชื้อได้

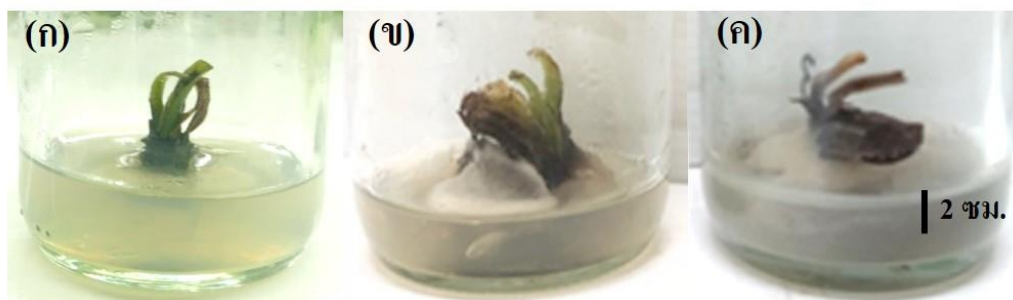
ตารางที่ 1 การรอดชีวิตและการปนเปื้อนของเชื้อรา และแบคทีเรียของชิ้นส่วนกล้วยหอมทองหลังจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 1 เดือน

	เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของ NaOCl		การรอดชีวิต (%)	การปนเปื้อนของเชื้อรา (%)	การปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย (%)
	(ครั้งที่ 1)	(ครั้งที่ 2)			
T ₁	10	5	66.67 ^b	25.00 ^a	8.33
T ₂	20	10	91.67 ^a	8.33 ^b	0.00
T ₃	30	20	100.00 ^a	0.00 ^c	0.00
F-test			*	*	ns
C.V. (%)			13.69	63.96	20.89

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



ภาพที่ 1 ลักษณะของชิ้นส่วนหน่อกล้วยหอมทองหลังการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 1 เดือน
(ก) ชิ้นส่วนที่รอดชีวิต; (ข) ชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อนของเชื้อรา; (ค) ชิ้นส่วนที่มีการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย

การทดลองที่ 2 ผลของความเข้มข้นของ BA ต่อการชักนำยอดรวม

เมื่อเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนหน่อของต้นกล้วยหอมทองบนอาหารสูตร MS เติม BA ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า ต้นอ่อนกล้วยหอมทองที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ปราศจากการเติม BA มีการเจริญเติบโตทางลำต้นดีกว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA ทุกความเข้มข้น (2.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) ไม่ว่าจะเป็นด้านความสูง ความยาวใบ ความกว้างใบ ขนาดทรงพุ่ม ความยาวราก และจำนวนราก โดยในเดือนที่ 3 ให้ผลการเจริญเติบโตทางด้านความสูงต้น ความยาวใบ ความกว้างใบ ความยาวราก และจำนวนราก เฉลี่ย 12.47, 5.82, 2.47, 11.27 เซนติเมตร และ 13.33 ราก ตามลำดับ (ตารางที่ 2 และ 3) สอดคล้องกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยหินบนสูตรอาหาร MS ที่ไม่เติม BA ซึ่งพบว่า ต้นอ่อนกล้วยหินมีการเจริญเติบโตและเปอร์เซ็นต์การเกิดราก และจำนวนรากมากที่สุด (Tudses *et al.*, 2019) โดยปกติในธรรมชาติพืชจะมีการสร้างฮอร์โมนขึ้นเองภายในต้นพืช และมีผลต่อการตอบสนองในการเจริญเติบโตและพัฒนาของเซลล์ รวมไปถึงการชักนำการเกิดยอดหรือรากได้ ขึ้นอยู่กับความสมดุลระหว่างปริมาณฮอร์โมนภายในพืช หากทำการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตต่าง ๆ

ลงในอาหารที่เพาะเลี้ยงก็จะส่งผลต่อการตอบสนองและระดับปริมาณฮอร์โมนภายในของพืชด้วยเช่นกัน จึงทำให้พืชสามารถตอบสนองต่อการชักนำการสร้างยอดรวม การเจริญเติบโตของยอดหรือรากได้ (White *et al.*, 2000; Mercier *et al.*, 2003) จากการเติม BA (2.5, 5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) ลงในอาหาร MS พบการเกิดยอดรวมในต้นอ่อนกล้วยหอมทองที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่มีการเติม BA ทุกระดับความเข้มข้น โดยที่ระดับความเข้มข้นของ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบการเกิดยอดมากที่สุดเฉลี่ย 4 ยอดต่อต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยง รองลงมาได้แก่ BA ความเข้มข้น 2.5 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 3 และ 2.33 ยอด ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และ ภาพที่ 2) แต่ผลการเจริญเติบโตทางลำต้นและรากของต้นอ่อนน้อยกว่าต้นอ่อนที่ไม่เติม BA โดยส่วนมากต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA มีรากสั้น และจำนวนรากน้อย การเปลี่ยนแปลงของต้นอ่อนในลักษณะนี้เป็นผลมาจากบทบาทของไซโตไคนินที่ชะลอการเจริญของปลายยอด และชักนำการเกิดตาข้าง (Madhulatha *et al.*, 2004) ซึ่งการเจริญเติบโตของต้นและรากของพืชขึ้นอยู่กับความสมดุลของปริมาณออกซิน และไซโตไคนิน หากอัตราส่วนของออกซินต่อไซโตไคนินเหมาะสม เนื้อเยื่อพืชจะเจริญไปเป็นต้นและรากที่สมบูรณ์ หากในรากพืชมีปริมาณไซโต

ไคนินมากเกินไปมีผลยับยั้งการยืดตัวของเซลล์รากได้ (Techapinyawat, 2005) จึงทำให้ต้นอ่อนกล้วยหอมทองที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BA มีการเจริญเติบโตของลำต้น และรากที่ดีกว่าต้นอ่อนกล้วยหอมทองที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA

จากผลของความเข้มข้นของ BA ที่แตกต่างกันต่อการชักนำการเกิดยอดรวมของต้นอ่อนกล้วยหอมทองที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS พบว่า BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำการเกิดยอดรวมในกล้วยหอมทองได้สูงที่สุดคือ 4 ยอด สอดคล้องกับหลายงานวิจัยที่ศึกษาการใช้ BA ต่อการชักนำการเกิดยอดใหม่ในกล้วยหลายชนิด เช่น Selakorn (2016) รายงานว่า การเติม BA ความเข้มข้น 0, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหาร MS ต่อการเพาะเลี้ยงกล้วยน้ำว้ามะลิอ่อน พบว่า การเติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำการเกิดยอดรวมสูงสุด 3.00 ยอด โดยให้ความสูงต้น 4.22 เซนติเมตร มีจำนวนใบ 2.4 ใบ มีความกว้างใบ และความยาวใบ 0.62 และ 1.64 เซนติเมตร ตามลำดับ รองลงมาได้แก่ การเติม BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดรวม 1.8 ยอด Boonmee and Te-chato (2007) กล่าวว่า การเติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตรลงในอาหาร MS สามารถชักนำการเกิดยอดรวม

ในกล้วยน้ำว้า ให้จำนวนยอด 2.43 ยอด ให้ความสูงต้น 1.64 เซนติเมตร และให้น้ำหนักสด 0.41 กรัม Yensai and Suraninpong (2014) ศึกษาผลของ BA ต่อการชักนำการเกิดยอดรวมของกล้วยช้างในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า การเติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอด 5.77 ยอด ให้ความสูงต้น 1.78 เซนติเมตร และให้จำนวนใบ 1.97 ใบ ดังนั้น การใช้ความเข้มข้นของ BA ที่เหมาะสมต่อการชักนำการเกิดยอดใหม่ของต้นอ่อนกล้วยหอมทอง จะช่วยกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพและจำนวนของต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ได้ดีขึ้น ทำให้ได้ต้นพันธุ์ที่แข็งแรงปลอดโรค เหมาะสำหรับการเพาะปลูกเพื่อการค้า เพื่อให้ได้ผลผลิตที่ดีและสม่ำเสมอ และจากการรายงานของ Thanakronpaisan *et al.* (2019) ใช้ BA ร่วมกับไคโตซานในการเพาะเลี้ยงกล้วยน้ำว้ามะลิอ่อน ในอาหารสูตร MS พบว่า การใช้ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับไคโตซาน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ต้นอ่อนมีจำนวนยอด (9.8 ยอด) จำนวนตา (2.25 ตา) และจำนวนราก (2.67 ราก) สูงที่สุด แสดงให้เห็นว่าไคโตซานช่วยกระตุ้นการพัฒนาของยอดและรากได้ ดังนั้น หากนำมาใช้กับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นอ่อนกล้วยหอมทองอาจจะให้ผลสอดคล้องกันซึ่งต้องทำการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 2 ความสูงต้น ความยาวใบ ความกว้างใบ และจำนวนใบของต้นอ่อนกล้วยหอมทองในสภาพปลอดเชื้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีการเติม BA ที่ความเข้มข้น 0, 2.5, 5.0 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน

ความเข้มข้น ของ BA (มล./ล.)	ความสูงต้น (ซม.)			ความยาวใบ (ซม.)			ความกว้างใบ (ซม.)			จำนวนใบ (ใบ)		
	เดือน			เดือน			เดือน			เดือน		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	6.60 ^a	11.33 ^a	12.47 ^a	4.21 ^a	4.80 ^a	5.82 ^a	1.65 ^a	2.32 ^a	2.47 ^a	5.00 ^{ab}	6.67	7.33
2.5	3.67 ^b	6.83 ^b	7.37 ^b	3.29 ^b	3.86 ^{ab}	4.24 ^b	1.51 ^{ab}	1.53 ^b	1.61 ^b	5.67 ^a	7.00	8.00
5	4.57 ^b	6.50 ^b	7.03 ^b	2.87 ^b	3.63 ^b	4.37 ^b	1.03 ^b	1.39 ^b	1.70 ^b	4.67 ^b	6.00	6.67
7.5	4.50 ^b	6.17 ^b	6.50 ^b	2.64 ^b	3.93 ^{ab}	4.39 ^b	1.03 ^b	1.57 ^b	1.72 ^b	5.33 ^{ab}	6.00	7.00
F-test	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	ns	ns
C.V. (%)	21.24	27.33	16.22	11.83	13.85	12.01	23.82	15.69	14.15	9.68	19.61	24.55

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

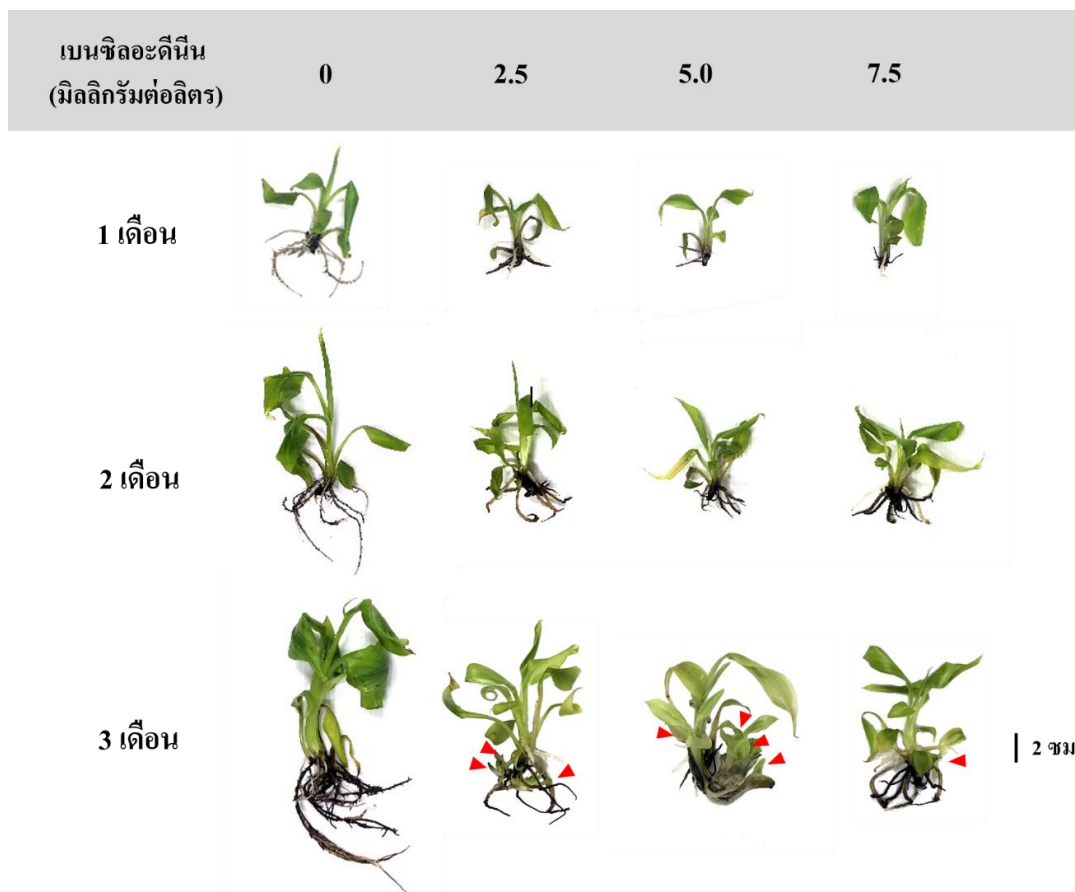
ตารางที่ 3 ความยาวราก จำนวนราก และจำนวนยอดใหม่ของต้นอ่อนกล้วยหอมทองในสภาพปลอดเชื้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีการเติม BA ที่ความเข้มข้น 0, 2.5, 5.0 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 3 เดือน

ความเข้มข้นของ BA (มล./ล.)	ความยาวราก (ซม.)			จำนวนราก (ราก)			จำนวนยอดรวม (ยอด)		
	เดือน			เดือน			เดือน		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	7.67 ^a	10.07 ^a	11.27 ^a	6.00 ^a	9.00	13.33	0.00	0.00	0.00 ^c
2.5	2.67 ^b	4.10 ^b	5.03 ^b	4.67 ^{ab}	9.33	10.33	0.00	0.00	3.00 ^{ab}
5	2.47 ^b	3.50 ^b	3.67 ^b	4.33 ^b	9.67	9.33	0.00	0.00	4.00 ^a
7.5	2.83 ^b	3.50 ^b	3.93 ^b	4.00 ^b	11.00	11.00	0.00	0.00	2.33 ^b
F-test	*	*	*	*	ns	ns	ns	ns	*
C.V. (%)	20.40	26.55	16.21	17.19	20.94	22.27	0.00	0.00	52.83

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

* มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ns ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



ภาพที่ 2 ต้นอ่อนกล้วยหอมทองในสภาพปลอดเชื้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่มีการเติม BA ที่ความเข้มข้น 0, 2.5, 5.0 และ 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 1 2 และ 3 เดือน (ลูกศรสีแดง = ยอดใหม่)

สรุป

จากการศึกษาความเข้มข้นของสารละลาย NaOCl ต่อการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของหน่อต้นกล้วยหอมทอง พบว่าความเข้มข้น 20 % เช้าเป็นเวลา 20 นาที ตามด้วยความเข้มข้น 10 % เช้าเป็นเวลา 10 นาที ให้การรอดชีวิตของชิ้นส่วน 91.67% เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการฟอกฆ่าเชื้อหน่อกล้วยหอมทอง สำหรับความเข้มข้นของ BA ต่อการชักนำการเกิดยอดรวมของต้นอ่อนกล้วยหอมทองบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS พบว่า BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำการเกิดจำนวนยอดใหม่ได้มากที่สุด 4 ยอด ส่วนสูตรอาหาร MS ที่ปราศจากเติม BA ให้การเจริญเติบโตทางด้านลำต้นของพืชดีที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณเพื่อการวิจัยจากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี อุปกรณ์และครุภัณฑ์ ที่เป็นประโยชน์ต่อการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา

เอกสารอ้างอิง

- Boonmee, O. and Te-chato, S. 2007. Somaclonal variation in tissue culture of banana cv. 'Kluai Num Wa' [*Musa* (ABB group)]. **Songklanakarin Journal of Science and Technology** 29(Suppl. II): 219-228. (in Thai)

- Chuengpanya, R., Muangkroot, A., Jenjittikul, T., Thammasiri, K., Umpunjun, P., Viboonjun, U. and Chuenboonngarm, N. 2022. *In Vitro* Propagation and Genetic Fidelity Assessment of *Hedychium longicornutum* Griff. ex Baker, a Vulnerable Zingiberaceous Plant of Thailand. **Applied Science and Technology** 22(6): 1-21.
- Daungban, S., Pumisitapon, P. and Topoonyanont, N. 2017. Effects of explants division by cutting, concentrations of TDZ and number of sub-culture cycles on propagation of ‘Kluai Hom Thong’ banana in a temporary immersion bioreactor system. **Thai Journal of Science and Technology** 6(1): 89-99.
- Dechpala, P., Pithayawutwinit, T. and Pensuk, V. 2019. Effect of coconut water and BA on shoot induction of *Musa* (ABB group) ‘Namwa Mali-Ong’ cultured in vitro. **Journal of Agricultural Production** 1(1): 69-76. (in Thai)
- Dumani, A., Yoldas, O., Isci, A.S., Köksal, F., Kayar, B. and Polat, E. 2007. Disinfection of artificially contaminated resilon cones with chlorhexidine and sodium hypochlorite at different time exposures. **Journal of Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology** 103(3): 82-85.
- Goswami, N.K. and Handique, P.J. 2013. In Vitro sterilization protocol for micropropagation of *Musa* (AAA group) ‘Amritsagar’ *Musa* (AAB group) ‘Malbhog’ and *Musa* (AAB group) ‘Chenichampa’ Banana. **Indian Journal of Applied Research** 3(6): 51-54.
- Gubbuk, H. and Pekmezci, M. 2006. *In vitro* propagation of banana (*Musa* spp.) using thidiazuron and activated charcoal. **Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science** 56(1): 65-69.
- Hannarong, N. 2013. **Banana Propagation by Tissue Culture**. New Knowledge. Available Source: http://www.ppsf.doe.go.th/web_km/index_km.html, March 20, 2022. (in Thai)
- Jafari, N., Othman, R.Y. and 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.
- Madhulatha, P., Anbalagan, M., Sayachandran, J. and Sakthivel, N. 2004. Influence of liquid pulse treatment with growth regulators on *in vitro* propagation of banana (*Musa* spp. AAA). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 76(2): 189-192.
- Mahawan, T., Kacwsuralikhi, C. and Pongchawee, K. 2012. Effect of sodium hypochlorite on surface sterilization of Little Star *Pogostemon helferi* Hook. f., pp. 375-383. **In the proceedings of the 50th Kasetsart university: Animal, Veterinary Medicine, Fisher conference**. Bangkok, Thailand. (in Thai)
- Mercier, H., Souza, B.M., Kraus, J.E., Hamasaki, R.M. and Sotta, B. 2003. Endogenous auxin and cytokinin contents associated with shoot formation in leaves of pineapple cultured *in vitro*. **Brazilian Journal of Plant Physiology** 15(2): 107-112.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for growth and bioassays with tobacco tissue. **Physiologia Plantarum** 15(3): 473-497.

- Office of Agricultural Economics. 2022. **Kluai hom**. Production. Available Source: <http://mis-app.oae.go.th/product/kluaihom>, August 18, 2022. (in Thai)
- Pais, A.K., Silva, A.P., Souza, J.C., Teixeira, S.L., Ribeiro, J.M., Peixoto, A.R. and Paz, C.D. 2016. Sodium hypochlorite sterilization of culture medium in micropropagation of *Gerbera hybrida* cv. Essandre. **African Journal of Biotechnology** 15(36): 1995-1998.
- Pirela, C.M., Maggiolo, S. and Yévenes, I. 2020. Determination of sodium hypochlorite concentrations in the activation of the irritant by passive technique with ultrasonic, during the ex vivo endodontic protocol. **International journal of interdisciplinary dentistry** 13(3): 132-134.
- Selakorn, O. 2016. Propagation of banana {Musa (ABB group) Namwa Mali-Ong} through tissue culture, pp 193-198. *In Proceeding of the 14th Naresuan Agriculture*. Phitsanulok, Thailand. (in Thai)
- Silayoi, B. 2015. **Banana**. 4th ed. Kasetsart University Press., Bangkok. (in Thai)
- Sookruksawong, S. 2022. Sterilization and Low-Cost Tissue Culture Techniques of *Dioscorea bulbifera*, pp 1-8. *In Proceeding of the 10th Plant Genetic Conservation Project Under the Royal Initiation of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn*. Nakhon Si Thammarat, Thailand. (in Thai)
- Sudhanyaratana, N., Aoki, S. and Rattana, K. 2016. Tissue culture and the analysis of ploidy stability of *Musa* (ABB) ‘Namwa Mali-Ong’.
- SUD Research Journal Sciences and Technology** 9(3): 1-14. (in Thai)
- Techapinyawat, S. 2005. **Plant Physiology**. 4th ed. Chamchuree Products CO., LTD., Bangkok. (in Thai)
- Thanakronpaisan, K., Kongbangkerd, A., Premjet, S. and Premjet, D. 2019. Effect of BA and chitosan on *In vitro* Growth of *Musa* (ABB Group) ‘Kluai Namwa Mali-Ong’. **Asia-Pacific Journal of Science and Technology** 24(1): 1-6.
- Tudses, N., Phungbunhan, K. and Audta, L. 2019. Effects of BA and NAA on growth and development of *Musa sapientum* (ABB group) cv ‘Kluai Hin’ in vitro and effects of substrate on growth in vivo. **King Mongkut's Agricultural Journal** 37(2): 262-273. (in Thai)
- White, C.N., Proebsting, W.M., Hedden, P. and Rivin, C.J. 2000. Gibberellins and seed development in maize I. Evidence that gibberellin/abscisic acid balance governs germination versus maturation pathways. **Plant Physiol** 122(4): 1081-1088.
- Yensai, P. and Suraninpong, P. 2014. Effect of benzyladenine and thidiazuron on multiple shoot induction in “Kluai Chang” *In Vitro*. **Khon Kaen Agriculture Journal** 42(Suppl. III): 157-161. (in Thai)
- Zand, V., Salem-Milani, A., Shahi, S., Akhi, M.T. and Vazifekhah, S. 2012. Efficacy of different concentrations of sodium hypochlorite and chlorhexidine in disinfection of contaminated Resilon cones. **Medicina Oral, Patologia Oral, Cirugia Bucal** 17(2): 352-355.