ว. วิชาการ กษ. 8 : 2-9 (2533)

การเติบโตและเพิ่มปริมาณต้นของกล้วยหอมพันธุ์ Grand Nain โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

กัลยาณี อรรถฉัตร[1] กวิศร์ วานิชกุล[1] และ จุลภาค คุ้นวงค์[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยหอมพันธุ์ Grand Nain โดยนำปลายยอดของกล้วยขนาด 1 ลูกบาศก์นิ้ว มาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยคลอรอกซ์ 10% นาน 15 นาที ตัดแบ่งตามยาวออกเป็น 4 ส่วน เลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (1962) ซึ่งเติมน้ำมะพร้าว 15% และ 6-Benzyladenine(BA) 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเนื้อเยื่อมีการเพิ่มขนาด เปลี่ยนเป็นสีเขียว ตายอดและตาข้างที่อยู่ระหว่างซอกใบ มีการเจริญเติบโตเป็นต้นกล้วยขนาดเล็กได้ภายในเวลา 2 เดือน เมื่อนำเอาต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมาตัดแบ่งเป็น 2 ส่วนตามยาวและย้ายลงเลี้ยงบนอาหารใหม่ พบว่าภายในเวลา 1 เดือนสามารถเพิ่มปริมาณได้ 2.44 ต้นต่อจำนวนหน่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยง 1 หน่อ คิดเป็นต้นทุนการผลิตประมาณ 7.60 บาทต่อ 1 ต้น

วิธีการขยายพันธุ์ของกล้วยมีด้วยกันหลายชนิด เช่น การชำหน่อกล้วย การตัดยอดลำต้นเพื่อให้แม่สามารถผลิตหน่อเพิ่มขึ้น การขุดหน่อทุก 2 เดือน การขุดเหง้านำมากรีดจุดเจริญแล้วนำไปเพาะชำใหม่ (เกศินี, 2528) มักใช้เวลานาน เสี่ยงต่อการเกิดโรคและแมลงเข้าทำลายหน่อและหน่อที่ได้มีขนาดไม่สม่ำเสมอ วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีที่สามารถขยายพันธุ์พืชได้ในปริมาณมากในระยะเวลาอันรวดเร็ว ปราศจากโรคมีความสม่ำเสมอทั้งอายุและความแข็งแรง (ไพบูลย์, 2524) ซึ่งกล้วยเป็นพืชอีกชนิดหนึ่งที่สามารถนำมาขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ผลดี Ma and Huang (1982) พบว่าสามารถเพาะเลี้ยงส่วนต่าง ๆ ของกล้วยเพื่อการขยายพันธุ์ได้เช่น ปลายยอดของหน่อ ช่อดอกอ่อน ปลายของช่อดอก แต่ส่วนที่เหมาะสมที่สุดคือ ปลายยอดของหน่อ โดยเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IAA และ Kinetin อย่างละ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร Dore Swamy et al. (1983) พบว่าปลายยอดของกล้วย Robusta (AAA) ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15% BA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะเจริญเป็นต้นเพียงต้นเดียว ถ้าไม่มีการตัดแบ่งปลายยอดนั้น แต่ถ้าตัดแบ่งแล้วนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS น้ำมะพร้าว 15% BA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าตาข้างจะเจริญเพิ่มปริมาณได้มากขึ้นจากชิ้นส่วน 1 ชิ้นจะได้ต้นอ่อนมากกว่า 35 ต้น นอกจากนี้ การเลี้ยงปลายยอดของกล้วยบนอาหารสูตร MS ที่เติม IAA และ Kinetin อย่างละ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณต้นอ่อนได้ถึง 5 เท่าในแต่ละเดือน และต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะให้ผลก่อนต้นที่ปลูกจากหน่อที่มีความสูงเท่ากันทั้งการให้ผลก็สม่ำเสมอกว่า (Hwang et al., 1984)

ในประเทศไทย ประภาสินี (2529) เลี้ยงปลายยอดของกล้วยไข่พระตะบองบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15% และ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าตาข้างที่อยู่ระหว่างซอกใบมีการเจริญเติบโตเป็นต้นกล้วยขนาดเล็กได้ เมื่อทำการตัดแบ่งและย้ายลงเลี้ยงบนอาหารใหม่ทุก 4 สัปดาห์ สามารถเพิ่มปริมาณได้ถึง 1,025 ต้น ในเวลา 20 สัปดาห์ ในสูตรอาหารเดียวกัน เมื่อนำปลายยอดกล้วยหอมทองมาเลี้ยง จะสามารถขยายพันธุ์ได้ถึง 500 ต้น ภายในเวลา 6 เดือน (ปาริชาติ, 2526) สำหรับกล้วยไข่ ได้มีการนำปลายยอดกล้วยไข่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15% ผงถ่าน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร

[1] ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กทม. 10903

และ BA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีการเพิ่มขนาด แตกหน่อ และมีการพัฒนาเป็นต้นที่แข็งแรงพร้อมรากภายใน 6 สัปดาห์ และเมื่อนำเอาต้นที่ได้มาตัดแบ่งเป็น 2 ส่วนนำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำมะพร้าว 15% BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณหน่อจากเดิม 1 ต้น เป็น 24 ต้นภายในเวลา 3 เดือน (สุภาพร, 2532)

จากที่ได้กล่าวมาทั้งหมดนั้นจะเห็นได้ถึงข้อดีของการใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของกล้วย และที่ระดับการใช้ BA ที่มีความเข้มข้นต่างกัน จะทำให้ได้ปริมาณหน่อกล้วยเพิ่มขึ้นต่างกัน ทั้งนี้ต้องขึ้นกับชนิดพันธุ์ของกล้วยด้วย สำหรับการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงและการเพิ่มปริมาณของหน่อกล้วยหอมพันธุ์ Grand Nain บนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15% BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร รวมทั้งต้นทุนในการผลิต

อุปกรณ์และวิธีการ

นำหน่อกล้วยหอมพันธุ์ Grand Nain ขนาดเฉลี่ยสูง 40–50 ซม. มีใบ 2–3 ใบ มาตัดลอกกาบด้านนอกออกล้างด้วยน้ำสะอาด จากนั้นนำมาตัดตายอดให้มีขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์นิ้ว นำไปฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยคลอรอกซ์ 10% นาน 15 นาที นำเข้าตู้ปลอดเชื้อ ล้างด้วยน้ำที่สะอาดผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง ตัดบริเวณที่เป็นสีน้ำตาลซึ่งสัมผัสกับคลอรอกซ์ออกให้หมด ตัดแบ่งตามยาวออกเป็น 4 ส่วน นำแต่ละชิ้นส่วนวางบนอาหารที่เตรียมไว้ นำไปเลี้ยงในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 25–28 องศาเซลเซียสและความชื้นสัมพัทธ์ 80% ความเข้มแสง 800–1000 lux. ตลอด 24 ชั่วโมง จากนั้น 2 เดือนนำหน่อที่ได้มาตัดยอดและผ่าตามยาวเป็น 2 ส่วน นำไปวางบนอาหารที่เตรียมใหม่และเลี้ยงในห้องที่มีสภาพแวดล้อมเหมือนเดิมต่อไปอีก 1 เดือน อาหารวิทยาศาสตร์ที่ใช้ คือ อาหารสูตรดัดแปลงของ Murashige and Skoog (1962) + BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร+น้ำมะพร้าว 15% (v./v.)+น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ (w./v.) ปรับ pH ให้ได้ 5.6–5.8

การบันทึกผล แบ่งการบันทึกผลเป็น 2 ระยะ ระยะที่ 1 ย้ายลงเลี้ยงครั้งแรกบันทึกเกี่ยวกับลักษณะเนื้อเยื่อที่มีการพัฒนาเจริญเติบโต จำนวนหน่อ จำนวนใบและลักษณะสี เป็นเวลา 8 สัปดาห์โดยบันทึกทุก 2 วัน ระยะที่ 2 หลังจากตัดแบ่งหน่อใหม่ที่ได้ นำลงเลี้ยงบนอาหารที่เตรียมใหม่ บันทึกเกี่ยวกับลักษณะเนื้อเยื่อที่เจริญ จำนวนหน่อ จำนวนใบและลักษณะสี เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยบันทึกทุก 7 วัน

การคิดราคาค่าใช้จ่าย ราคาค่าใช้จ่ายที่คิดจะคิดทั้งค่าใช้จ่ายรวมและค่าใช้จ่ายเฉลี่ยต่อหน่อ โดยจะคิดจากผลการทดลองที่ได้จริงเทียบกับผลการทดลองที่ตั้งเป้าหมายไว้ 2 กรณี ดังนี้คือ กรณีที่ 1. ปริมาณต้นอ่อนที่ได้เมื่อมีอัตราเพิ่ม 2 ต้นต่อ 1 ชิ้นส่วนทุกครั้งที่มีการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ กรณีที่ 2. ปริมาณต้นเพิ่มขึ้นตามอัตราการทดลอง โดยที่ทุกชิ้นส่วนสามารถเจริญให้ต้นใหม่ได้

ผลการทดลอง

พบว่าชิ้นส่วนปลายยอดของหน่อกล้วยหอมพันธุ์ Grand Nain มีการเปลี่ยนแปลงที่สังเกตุเห็นได้ดังนี้คือ สัปดาห์ที่ 1 ชิ้นส่วนยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงที่เห็นได้ชัดเจน มีเพียงการเพิ่มขนาดขึ้นเล็กน้อยและบริเวณรอยตัดมีสีน้ำตาล (Fig.1) สัปดาห์ที่ 2–3 ชิ้นส่วนขยายขนาดส่วนฐานเพิ่มมากขึ้น มีการเจริญยืดยาวขึ้นบริเวณรอยตัดด้านบน กาบขยายและกางออกเริ่มมีสีเขียว (Fig.2) สัปดาห์ที่ 4 จุดเจริญของชิ้นส่วนเพิ่มโตขึ้นและเจริญเป็นต้นอ่อนขนาดเล็ก 1 ต้น สัปดาห์ที่ 5–6 ต้นที่ได้มีการเจริญเติบโตและมีสีเขียวมากขึ้น และในบางชิ้นส่วนให้ต้นอ่อนขนาดเล็กเกิดขึ้นอีก 1 ต้น สัปดาห์ที่ 7–8 ต้นอ่อนมีใบสีเขียว 1–2 ใบ และแข็งแรงเพิ่มมากขึ้น (Fig.3)

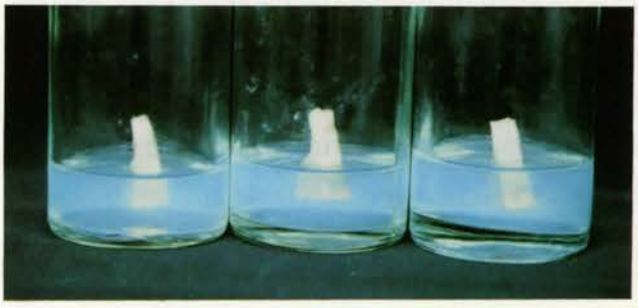

Fig. 1. Explants from shoot tips of banana on synthetic media.

Fig. 2. The expansion of leaves and swollen tissue in the third week.

Fig. 3. Small green shoots derived from meristem tissue in the fifth week.

เมื่อนำต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มาตัดยอดแบ่งตามยาวออกเป็น 2 ส่วน นำไปวางบนอาหารที่เตรียมใหม่ พบว่าเนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงในทำนองเดียวกัน แต่การเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นต้นอ่อนเกิดได้เร็ว แข็งแรงและมีปริมาณมากขึ้นได้เร็วและมากกว่าในการเลี้ยงเนื้อเยื่อครั้งแรก โดยพบว่าสัปดาห์ที่ 1 เนื้อเยื่อสามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนสีเขียวและมีใบเกิดขึ้นให้เห็นบ้างแล้ว สัปดาห์ที่ 2-4 จำนวนต้นอ่อนและใบเพิ่มปริมาณมากขึ้น มีสีเขียวเข้มเพิ่มมากขึ้น และมีความแข็งแรงมากขึ้น (Table 1)

Table 1. Development of tissue after subculture

Week	No. of shoots	No. of leaves shoot	color
1	143	1.53	+
2	172	2.54	+ +
3	221	3.10	+ +
4	242	3.77	+ + +

+ Green

ในการเพิ่มปริมาณหน่อพบว่า ภายในเวลา 3 เดือนตั้งแต่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อครั้งแรกจนถึงตัดแบ่งหน่อที่ได้เลี้ยงบนอาหารที่เตรียมใหม่ สามารถเพิ่มปริมาณหน่อได้มากขึ้น ซึ่งจะแสดงผลเปรียบเทียบระหว่าง ปริมาณหน่อที่ได้จากการทดลองกับปริมาณหน่อที่ตั้งเป้าหมายเอาไว้ทั้ง 2 กรณี ดังกล่าวแล้ว (Table 2, 3, 4, 5 and Fig.4)

Table 2. Comparison of No. of shoots and pieces from the first culture with estimated target for *Case I*

Characters	The first culture		
	Result	Estimated target case I	% Compared
1. No. of sucker	30	30	–
2. No. of divided pieces	114	120	95
3. No. of dead pieces	6	–	5
4. No. of living pieces	108	120	90
5. No. of regenerated pieces	82	120	68.33
6. No. of shoots	99	240	41.25
7. No. of shoots : No. of regenerated pieces. (6 : 5)	1.21	2.00	60.50
8. No. of shoots : No. of suckers (6 : 1)	3.30	8.00	41.25

Table 3. Comparison of No. of shoots and pieces from the first culture with estimated target for *Case II*

Characters	The first culture		
	Result	Estimated target case II	% Compared
1. No. of sucker	30	30	–
2. No. of divided pieces.	114	120	95
3. No. of dead pieces	6	–	5
4. No. of living pieces	108	120	90
5. No. of regenerated pieces	82	120	68.33
6. No. of shoots	99	145	68.18
7. No. of shoots : No. of regenerated pieces (6 : 5)	1.21	1,21	100
8. No. of shoots : No. of suckers (6 : 1)	3.30	4.83	68.32

Table 4. Comparison of No. of shoots and pieces from the second culture with estimated target for *Case I*

Characters	The second culture		
	Result	Estimated target case I	% Compared
1. No. of sucker	99	240	41.25
2. No. of divided pieces.	198	480	41.25
3. No. of dead pieces	–	–	–
4. No. of living pieces	198	480	41.25
5. No. of regenerated pieces	159	480	33.13
6. No. of plantlets	242	960	25.21
7. No. of plantlets : No. of regenerated pieces. (6 : 5)	1.52	2.00	76.00
8. No. of plantlets : No. of suckers (6 : 1)	2.44	4.00	61.00

Table 5. Comparison of No. of shoots and pieces from the second culture with estimated target for *Case II*

Characters	The second culture		
	Result	Estimated target case II	% Compared
1. No. of sucker	99	145	68.18
2. No. of divided pieces.	198	290	68.18
3. No. of dead pieces	–	–	–
4. No. of living pieces	198	490	68.18
5. No. of regenerated pieces	159	290	55.75
6. No. of shoots	242	441	54.82
7. No. of shoots : No. of regenerated pieces	1.52	1.52	100
8. No. of shoots : No. of suckers	2.44	3.04	80.26

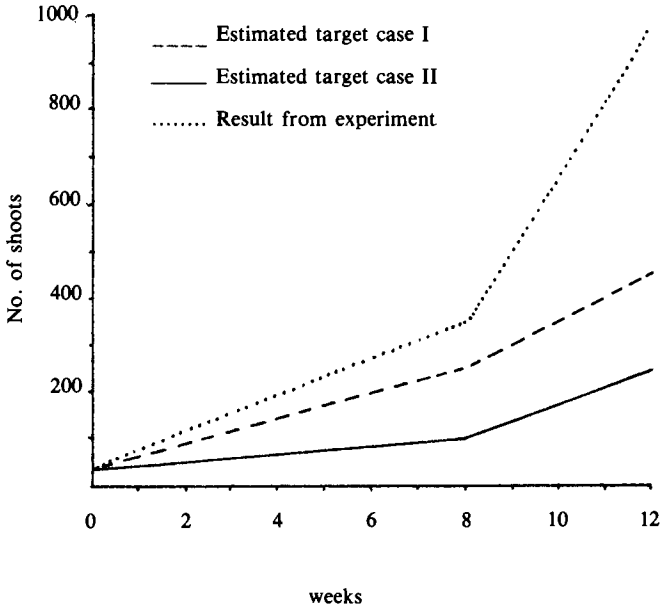

Fig. 4. Comparison of No. of shoots derived from experiment with 2 estimated target case from first week to twelveth week.

ราคาต้นทุนในการผลิตต้นกล้วยตั้งแต่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อครั้งแรก จนถึงนำต้นที่ได้มาตัดแบ่งและเปลี่ยนอาหารใหม่เป็นเวลา 90 วัน แสดงเปรียบเทียบไว้ใน Table 6.

Table 6. The cost of shoots production and the price of related factors in the experiment

Related factors of the experiment	Cost of production (Baht)	
	Minimum	Maximum
Chemicals using in preparation		
MS medium	19.53	21.64
BA + Coconut water + Agar	27.75	27.75
Banana sucker + Clorox + Alcohol	349.50	349.50
Electricity (90 days)	1,413.56	1,413.56
Other materials (Plastic, Aluminum foil, Water)	30.00	30.00
Total expense	1,840.342	1,840.452
Cost per shoot from experiment	7.605	7.613
Cost per shoot from estimated target case I	1.917	1.919
Cost per shoot from estimated target case II	4.173	4.178

วิจารณ์

จากการทดลองเพาะเลี้ยงกล้วยหอมพันธุ์ Grand Nain บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าว 15% พบว่าเนื้อเยื่อมีการขยายขนาดขึ้นและสามารถชักนำให้เกิดต้นอ่อนได้ ทั้งนี้เนื่องจาก BA และน้ำมะพร้าวซึ่งมีสารพวก myoinositol 1-3-diphenylurea และ leucoanthocyanin เป็นฮอร์โมนที่อยู่ในกลุ่มของ Cytokinin มีความสามารถในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการเกิดตา ซึ่งในกล้วยสามารถชักนำให้เกิดหน่อได้ดี ซึ่งตรงกับงานทดลองของปาริชาติ (2526) ทดลองนำปลายยอดกล้วยหอมทอง เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตกับอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวและ BA พบว่าชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อกล้วยที่เลี้ยงบนอาหารที่เติม BA และน้ำมะพร้าว สามารถเจริญเติบโตได้รวดเร็วและชักนำให้เกิดหน่อได้มากกว่า และงานทดลองของสุภาพร (2532) ทดลองเลี้ยงปลายยอดกล้วยไข่บนอาหารสูตร MS ที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต อาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวและอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวและ BA พบว่าชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวและ BA สามารถชักนำให้เกิดหน่อได้มากกว่า ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำมะพร้าว และอาหารสูตร MS ที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตตามลำดับ

นอกจากนี้พบว่าในการเลี้ยงเนื้อเยื่อไม่มีการเจริญของราก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอัตราส่วนระหว่างออกซินและไซโตไคนินไม่เหมาะสม โดยมีอัตราส่วนของไซโตไคนินสูง เนื้อเยื่อจึงมีการเจริญของตาอย่างเดียว ไม่มีการเจริญของราก (สัมพันธ์, 2525) ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของปาริชาติ (2526) ทำการทดลองเลี้ยงปลายยอดกล้วยหอมบนอาหารสูตร MS ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่าสามารถให้หน่อและรากได้ ส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวและ BA สามารถเกิดหน่อได้ดีกว่าและไม่เกิดราก

เมื่อนำต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาทำการตัดแบ่ง และนำไปเลี้ยงบนอาหารที่เตรียมใหม่สามารถเพิ่มจำนวนหน่อมากขึ้น จากการทดลองทั้งสองขั้นตอนจะตัดแบ่งชิ้นส่วนทุกครั้ง ทั้งนี้เนื่องจากการตัดแบ่งปลายยอดของกล้วยทำให้เนื้อเยื่อเจริญบริเวณซอกใบเจริญเพิ่มมากขึ้น จนพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ดีกว่าไม่ทำการตัดแบ่งปลายยอดซึ่งจะเจริญเป็นต้นอ่อนเพียงต้นเดียว (Dore Swamy et al., 1983) มีในกล้วยไข่ พบว่าการตัดแบ่งปลายยอดสามารถให้หน่อได้ดีกว่าที่ไม่ตัดแบ่งปลายยอดถึง 3 เท่า (สุภาพร 2532)

จากผลการทดลองที่ได้จะพบว่าทั้ง 2 ขั้นตอนการให้จำนวนต้นต่อหน่อเริ่มต้นต่างกันโดยในขั้นตอนแรกจะให้จำนวนต้นมากกว่า ทั้งนี้เนื่องจากการตัดแบ่งชิ้นส่วนต่อหน่อไม่เท่ากัน ในขั้นตอนแรกจะตัดแบ่ง 4 ส่วน ส่วนในขั้นตอนที่ 2 ตัดแบ่ง 2 ส่วน จำนวนชิ้นส่วนจึงต่างกันส่งผลให้จำนวนต้นอ่อนแตกต่างกัน

เมื่อพิจารณาอัตราการเพิ่มปริมาณต่อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ พบว่าในขั้นตอนที่ 2 จะมีอัตราการเพิ่มที่ดีกว่าในขั้นตอนแรก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการสะสมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ได้จากอาหารสังเคราะห์ ที่มีความสำคัญในการเกิดต้นโดยเฉพาะได้แก่ BA และน้ำมะพร้าว ในขั้นตอนที่ 2 น่าจะมีการสะสมสารควบคุมการเจริญเติบโตในชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อ ในระดับที่สูงกว่าในตอนแรกเนื่องจากเป็นชิ้นส่วนที่ได้จากต้นที่เลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์มาก่อน ซึ่งระดับของสารควบคุมการ

เจริญเติบโตภายในเนื้อเยื่อมีผลต่อการเจริญของเนื้อเยื่อ (ไพบูลย์, 2524) ทำให้อัตราส่วนไซโตไคนินต่อออกซินมากขึ้นอยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดหน่อได้มากขึ้น

ในการทดลองระยะเวลาที่ใช้ในการทดลองแต่ละขั้นอาจนานเกินไป ในขั้นตอนแรกใช้เวลาถึง 8 สัปดาห์ ซึ่งหน่อที่ได้และสามารถนำมาตัดแบ่งได้นั้นสามารถทำได้ในสัปดาห์ที่ 7 การที่เลี้ยงจนถึง 8 สัปดาห์ไม่มีผลในการเจริญเติบโตมากนักเนื่องจากการเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารเดิมเป็นเวลานาน การสะสมของเสียของเนื้อเยื่อมีมากขึ้นโดยมีส่วนฐานของชิ้นส่วนมีการสร้างสาร phenolic compound ซึ่งถ้ามีจำนวนมากจะยับยั้งการเจริญเติบโต สังเกตได้จากอาหารมีสีดำขึ้น (ปาริชาติ, 2526) และในขั้นตอนที่ 2 การที่เลี้ยงจนถึงสัปดาห์ที่ 4 จะพบว่าใบล่างของหน่อเริ่มเหลืองบ้างแล้ว ยอดบางยอดเจริญเติบโตจนถึงฝาขวด การย้ายน่าจะกระทำได้ในสัปดาห์ที่ 3

การลดระยะเวลาการทดลองลงนี้มีผลดีทั้งในเรื่อง การผลิตหน่อได้เร็วขึ้นและลดต้นทุนในการผลิต ซึ่งในต้นทุนการผลิตนั้นพบว่าส่วนใหญ่เป็นค่าไฟฟ้า ถ้าหากเวลาที่ใช้ในการทดลองลดลงค่าไฟฟ้าที่ใช้ลดลงต้นทุนในการผลิตก็จะลดลงด้วย และจากการทดลองชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อไม่สามารถพัฒนาเกิดหน่อได้ทุกชิ้นส่วน จากผลการทดลอง Fig. 2 และ Table 3 และ 4 ที่แสดงการเปรียบเทียบให้เห็น จะพบว่าถ้าหากทุกชิ้นส่วนพัฒนาให้หน่อทุกชิ้นส่วน จำนวนหน่อที่ได้สามารถเพิ่มได้มากขึ้นอีก 1 เท่า ต้นทุนต่อหน่วยจะลดลงได้เหลือหน่อละ 4.20 บาท และถ้าสามารถทำให้เกิดหน่อได้ตรงตามเป้าหมายที่คาดไว้โดยทุกชิ้นพัฒนาเป็นหน่อได้ 2 หน่อต่อ 1 ชิ้นส่วน ก็จะสามารถเพิ่มหน่อได้มากขึ้นถึง 4 เท่า ต้นทุนต่อหน่อจะลดลงได้หน่อละ 1.90 บาท

ดังนั้นจะเห็นได้ว่า ถ้าหากสามารถทำให้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อพัฒนาเกิดหน่อได้ทุกชิ้นส่วน แต่ละชิ้นส่วนให้หน่อเกิดขึ้น 2 หน่อต่อ 1 ชิ้นส่วน จะสามารถขยายหน่อได้มากขึ้นในเวลาอันรวดเร็ว และต้นทุนในการผลิตจะลดลงอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งมีแนวโน้มจะผลิตได้ในรูปของการค้า

จากการทดลองครั้งนี้ ยังมีข้อบกพร่องที่ควรได้รับการปรับปรุงและมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องของขนาดชิ้นส่วนที่ตัดแบ่งไม่เท่ากันทำให้ส่วนที่เป็นเยื่อเจริญในแต่ละชิ้นไม่เท่ากัน การพัฒนาของชิ้นส่วนจึงแตกต่างกัน การปนเปื้อนของเชื้อโรค สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงยังไม่เหมาะสม เช่น ระดับความเป็นกรด-ด่างของอาหาร ระดับความเข้มข้นของ BA ลักษณะอาหารที่ใช้เลี้ยง ดังเช่นการทดลองของ Cronauer and Krikorian (1985) ที่เอาส่วนปลายดอกของกล้วย Dwarf Cavendish มาเลี้ยงบนอาหารเหลวสูตร MS สามารถเกิดหน่อสีเขียวได้ และจะสามารถกระตุ้นให้เพิ่มหน่อขึ้นได้โดยการย้ายเนื้อเยื่อไปไว้ในอาหารเหลวสลับกับอาหารกึ่งแข็งที่มีส่วนประกอบเดียวกัน

สภาพแวดล้อมในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ แสง อุณหภูมิ ซึ่งจากการทดลองต้นทุนส่วนใหญ่มาจากค่าไฟฟ้า ที่ใช้ในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อควบคุมสภาพแสงและอุณหภูมิ จึงน่าจะมีการศึกษาในเรื่อง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยในสภาพแสงตามธรรมชาติ และอุณหภูมิห้อง ซึ่งถ้าเป็นไปได้จะทำให้ต้นทุนการผลิตลดลงได้มากกว่าครึ่งหนึ่งของต้นทุนในการผลิต และเลี้ยงเนื้อเยื่อได้มากขึ้น

จากสาเหตุเหล่านี้ เป็นส่วนทำให้การทดลองที่ได้ไม่บรรลุผลตามเป้าหมายที่คาดเอาไว้ จึงควรมีการปรับปรุงและศึกษาปัจจัยเหล่านี้ให้มากขึ้น เพื่อจะทำให้การขยายพันธุ์กล้วยหอมพันธุ์ Grand Nain โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ผลดียิ่งขึ้น

สรุป

การศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของชิ้นส่วนปลายยอดของหน่อกล้วยหอมพันธุ์ Grand Nain โดยนำหน่อกล้วยมาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยคลอรอกซ์ 10% BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าในเวลา 7 สัปดาห์ เนื้อเยื่อมีการพัฒนาเป็นหน่อกล้วยขนาดเล็กและเมื่อนำมาตัดแบ่งเลี้ยงบนอาหารใหม่ สามารถเพิ่มปริมาณหน่อได้ ภายในเวลา 4 สัปดาห์ จะได้หน่อขนาดเล็กประมาณ 2.44 ต้นต่อหน่อเดิมที่ได้จากการเลี้ยงเนื้อเยื่อครั้งแรก และได้หน่อเพิ่มเป็น 242 ต้นจากหน่อเดิม 30 หน่อ ภายในเวลา 3 เดือน คิดเป็นอัตราการเพิ่ม 8.07 ต้นต่อหน่อเดิม 1 หน่อ โดยมีต้นทุนต่อหน่อประมาณ 7.60 บาท

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุน เงินทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

เอกสารอ้างอิง

เกศินี ระมิงค์วงศ์. 2528. ไม้ผลเมืองร้อน. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่, 290 น.

ประภาสินี รัตโนภาส. 2529. เทคนิคการขยายพันธุ์กล้วยโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ปัญหาพิเศษปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 54 น.

ปาริชาติ นุกูลการ. 2526. ผลของสิ่งก่อกลายพันธุ์ต่อกล้วยหอมทองที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 65 น.

ไพบูลย์ กวินเลิศวัฒนา. 2524. หลักการและวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 109 น.

สัมพันธ์ คัมภิรานนท์. 2529. สรีรวิทยาของพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 330 น.

สุภาพร แก้วสมพงษ์. 2532. ผลของ 6-Benzylaminopurine ต่อการเกิดหน่อของกล้วยไข่บนอาหารสังเคราะห์. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 15 น.

Cronauer, SS. and A.D. Krikorian, 1985. Aseptic multipication of banana from excised floral apices. HortScience 20 : 770-771.

Dore Swamy, R, N.K. Srinivasa Rao. and E.K. Chacko. 1983. Tissue culture propagation of banana. Scientia. Hort. 18 : 247-252.

Hwang, S.C., C.L. Chen, J.C. Lin. and H.L. Lin. 1984. Cultivation of banana using plantlets from meristerm culture. HortScience 19 : 231-233

Ma, S.S. and P.L.Huang. 1982. In vitro propagation of banana. Fifth International Congress of Plant Tissue and Cell Culture. Tokyo. International Association for Plant Tissue Culture. p. 258.

Murashige,T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Pl. 15 : 473-497.

Clonal Propagation and Growth of Banana (*Musa* (AAA group) Grand Nain) through Tissue Culture

By

Kunlayanee Atthachat, Kawit Wanichkul and Julapark Chunwongse

Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkhen, Bangkok, Thailand 10903

ABSTRACT

Clonal propagation and growth of banana (*Musa* (AAA group) Grand Nain) Shoot *in vitro* culture was studied in this experiment. The shoots with apical meristem were cut into cubic inch, surface sterilized with 10% Clorox for 15 minutes, vertically cut into 4 pieces, cultured on modified MS medium (supplemented with 15% coconut water and 1 mg/1 BA) respectively, It was found that a tissue developed into a shoot and therefore a plantlet in 8 weeks. The plantlets were longitudinal cut and subcultured on modified MS medium. The plantlets increased approximately 2.44 shoots per plant in 4 weeks. Each plantlet produced by this method costs 7.60 baht.