

ผลของ Benzyladenine และ Thidiazuron ต่อการชักนำยอดรวม ของกล้วยช้างในสภาพปลอดเชื้อ

Effect of Benzyladenine and Thidiazuron on Multiple Shoot Induction in “Kluai Chang” *In Vitro*

พัชนันท์ เย็นใส¹ และ พงมालย์ สุรนินพงศ์^{1*}

Patchanun Yensai¹ and Potjamarn Suraninpong^{1*}

บทคัดย่อ: กล้วยช้างเป็นกล้วยที่มีผลขนาดใหญ่ หน่อมีราคาแพงและหาซื้อได้ยาก การศึกษาครั้งนี้ได้นำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้เพิ่มปริมาณต้นพันธุ์ โดยนำหน่ออายุ 1 เดือน ขนาด 1 เซนติเมตร ที่ชักนำได้ในสภาพปลอดเชื้อ มาวางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เติม TDZ ความเข้มข้น 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 3 เดือน ผลการศึกษาพบว่า อาหารที่เพาะเลี้ยงทั้งสามชนิดสามารถชักนำการเกิดยอดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้หน่อกล้วยช้างที่วางเลี้ยงบนอาหารเติม TDZ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมการสร้างจำนวนหน่อ และจำนวนใบได้สูงที่สุด คือ 10.8 หน่อต่อชิ้นส่วน และ 2.42 ใบต่อต้น ตามลำดับ อาหารเติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมการยืดยาวของหน่อรวมได้ดีที่สุด คือ 0.53 เซนติเมตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่อาหารเติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมการยืดยาวของหน่อได้ดีที่สุด คือ 1.78 เซนติเมตร ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ หน่อที่ชักนำได้ทั้งหมดเมื่อย้ายไปเลี้ยงในอาหารเติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2 เดือน ได้ต้นกล้วยช้างที่สมบูรณ์พร้อมออกปลูกในดิน ดังนั้นการขยายพันธุ์กล้วยช้างด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจาก 1 หน่อที่เพาะเลี้ยงสามารถขยายพันธุ์ได้ต้นกล้วยช้างที่พร้อมออกปลูกประมาณ 1,331 ต้น ในเวลา 1 ปี

คำสำคัญ: กล้วยงาช้าง, Benzyladenine, Thidiazuron, การขยายพันธุ์, สภาพปลอดเชื้อ

ABSTRACT: Kluai Chang is a banana that produces a jumbo fruit. Shoot of this plant is expensive and difficult to buy. This study used tissue culture technique for propagation of this banana. Shoot at 1 month-old, 1 cm height, induced from *in vitro* condition was cultured on MS solid medium supplemented with 0.1 and 0.5 mg/l TDZ and 5.0 mg/l BA for 3 months. It was found that all of three cultured medium could be induce shoot production at 100 %. Medium supplemented with 0.1 mg/l TDZ promoted number of shoot and number of leaf at 10.8 shoots per explants and 2.42 leaves per shoot, respectively. Culture medium consisted of 0.5 mg/l TDZ prompted the highest height of multiple shoot at 1.78 cm with significant difference. While, culture medium added with 5.0 mg/l BA promoted the highest height of the main shoot at 1.78 cm with no significant difference. All of induced shoot when transfer to culture on medium supplemented with 5.0 mg/l BA for 2 months, produced completely plantlet. Thus, propagation of Kluai Chang via tissue culture technique, 1 shoot could be multiply approximately 1,331 plantlets per year.

Keywords: Kluai Chang, Benzyladenine, Thidiazuron, propagation, *in vitro*

¹ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ นครศรีธรรมราช 80161

Institute of agricultural technology, Walailak University, Nakhon Si Thammarat, 80161

* Corresponding author: spotjama@wu.ac.th

บทนำ

กล้วยงาช้าง เป็นกล้วยที่อยู่ในตระกูล Musaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Musa sapientum* L. (AAB group) ชื่อสามัญภาษาอังกฤษว่า “Kluai Chang” มีถิ่นกำเนิดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สามารถเจริญเติบโตได้ดีในทุกภาคของประเทศไทย กล้วยชนิดนี้มีลักษณะเด่นอยู่ที่ผลที่มีขนาดยาวและใหญ่ โดยทั่วไปกล้วยงาช้าง 1 เครือ จะออกหวีประมาณ 1-3 หวี หวีหนึ่งๆ มี 2-3 ผล ผลยาวประมาณ 36 เซนติเมตร เนื้อสีเหลืองนวลอมชมพู เน้นนุ่มเหนียว กลิ่นหอม และมีรสชาติอร่อย (เบญจมาศ, 2538) ทำให้มีผู้สนใจปลูกกล้วยงาช้างมากขึ้น แต่ต้นพันธุ์ของกล้วยงาช้างมีอยู่อย่างจำกัด การขยายพันธุ์กล้วยโดยทั่วไปนิยมใช้หน่อ ในปัจจุบันได้มีผู้นำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ขยายพันธุ์กล้วยได้สำเร็จ (สมปอง, 2539) ทำให้ผู้วิจัยมีความสนใจที่จะนำวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้เพิ่มปริมาณต้นพันธุ์กล้วยงาช้าง ทั้งนี้การชักนำยอดของพืชในสภาพปลอดเชื้อนิยมใช้ไซโตไคนินในรูปแบบและความเข้มข้นที่แตกต่าง เช่น 6-Benzyladenine (BA) Zeatin Kinetin หรือ Thiadiazuron (TDZ) เป็นต้น (พีรเดช, 2537) แต่มีรายงานความสำเร็จในการใช้ BA และ TDZ เพื่อชักนำการเกิดยอดในพืชหลายๆ ชนิด เช่น กล้วยไม้ (ศิวพงศ์, 2541) pigeonpea (Singh *et al.*, 2003) ยี่ห่วย (Huettemann and Preece, 1993) ฝรั่ง (Kapanu and Cheng, 1997) และ ถั่วลิสง (Gupta and Bhargava, 2001) เป็นต้น ดังนั้นการศึกษานี้ผู้วิจัยจึงมีแนวความคิดที่จะนำ BA และ TDZ มาใช้ศึกษาความสามารถในการชักนำการเกิดยอดรวม (multiple shoots) เพื่อเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์กล้วยงาช้างในสภาพปลอดเชื้อ

วิธีการศึกษา

นำยอดกล้วยงาช้างที่ชักนำได้ในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) เดิม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร อายุ 2 เดือน

ความสูง 1 เซนติเมตร มาวางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เดิม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือเดิม TDZ ความเข้มข้น 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารที่ 5.6-5.8 และผงวุ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ ทำการเพาะเลี้ยงในสภาพให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 40 ไมโครโมลาร์ต่อตารางเมตรต่อวินาที อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ทำการย้ายเลี้ยงขึ้นส่วนในอาหารใหม่สูตรเดิมทุกๆ 1 เดือน บันทึก เปอร์เซ็นต์การสร้างยอดรวม จำนวนหน่อต่อชิ้นส่วน ความสูงยอด และจำนวนใบ ทุกๆ 1 เดือน เป็นเวลา 3 เดือน จากนั้นย้ายยอดที่ชักนำได้ทั้งหมดไปวางเลี้ยงบนอาหารแข็งที่เดิม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำการยืดยาวของยอดและราก เป็นเวลา 2 เดือน ก่อนย้ายลงปลูกในดิน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ทำ 4 ซ้ำๆ ละ 5 ยอด วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SPSS

ผลและวิจารณ์การศึกษา

ผลของ BA และ TDZ ต่อพัฒนาการของหน่อกล้วยงาช้าง

หลังวางเลี้ยงหน่อกล้วยงาช้างเป็นเวลา 2 เดือน บนอาหารเดิม BA หรือ TDZ ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าอาหารที่เพาะเลี้ยงทั้งสามชนิดสามารถชักนำการสร้างยอดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเพาะเลี้ยงต่อไปในเดือนที่ 3 พบว่า อาหารที่เดิม TDZ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำการสร้างจำนวนหน่อได้สูงที่สุด คือ 10.8 ± 2.55 หน่อต่อชิ้นส่วน ในขณะที่ชิ้นส่วนยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเดิม TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดหน่อและจำนวนหน่อน้อยกว่ายอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารเดิม TDZ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (Table 1, Figure 1) ความเข้มข้นของ TDZ ที่สูงขึ้น ส่งผลให้หน่อที่วางเลี้ยงมีสีเปลี่ยนจากเขียวเป็นน้ำตาลมากขึ้น และ

มีการปล่อยสารสีน้ำตาลหรือสารประกอบฟีนอลออกสู่อาหารมากขึ้น ส่งผลให้หยุดชะงักการพัฒนา ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ เบญจมาศ (2538) ที่รายงานว่า อาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้นที่สูงขึ้น ชักนำให้ขึ้นส่วนพืชสร้างสารสีน้ำตาลออกมาจากบาดแผลมากขึ้น และสารชนิดนี้มีผลยับยั้งการแบ่งเซลล์ การเพิ่มขนาดของเซลล์ และการเจริญเติบโตของพืช อย่างไรก็ตาม TDZ เป็นฮอร์โมนพืชในกลุ่มไซโตไคนินสังเคราะห์ ที่นำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออย่างแพร่หลาย เพื่อเพิ่มจำนวนยอดหรือกระตุ้นการแตกยอดในพืชหลายชนิด (Huettemann and Preece, 1993)

อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาความสูงของหน่อใหม่ที่ชักนำได้ พบว่า อาหารที่เติม TDZ เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำการยืดยาวของหน่อรวมได้ดีที่สุด คือ 0.53 ± 0.03 เซนติเมตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่อาหารเติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมการยืดยาวของหน่อเดิมได้ดีกว่าอาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.1 หรือ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร คือ 1.78 ± 0.21 เซนติเมตร ไม่มี

ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 1, Figure 2) นอกจากนี้พบว่า อาหารที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำการเพิ่มจำนวนใบได้ดีกว่าอาหารที่เติม TDZ เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรืออาหารที่เติม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร คือ 2.42 ± 1.26 ใบต่อต้น ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 1, Figure 3) ยอดที่ชักนำได้ทั้งหมดเมื่อนำไปวางเลี้ยงบนอาหารเดิม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2 เดือน สามารถชักนำการสร้างรากได้ 100 เปอร์เซ็นต์ พร้อมทั้งส่งเสริมให้ต้นมีลำต้นที่สมบูรณ์และแข็งแรง เหมาะสมที่จะนำไปปลูกในโรงเรือนต่อไปได้ เป็นไปในทำนองเดียวกับ สมปอง (2539) ที่พบว่าอาหารเดิม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมการสร้างยอด ความแข็งแรงของยอด และความสูงของยอดกล้วยได้ดีที่สุด ทั้งนี้การขยายพันธุ์กล้วยช้างด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแสดงดังใน Figure 4 จากผลการศึกษาข้างต้นแสดงให้เห็นว่า สามารถใช้วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขยายพันธุ์กล้วยช้างในเชิงพาณิชย์ได้

Table 1 Development of Klui Chang shoot on cultured medium supplemented with different concentrations of BA and TDZ for 3 months.

Plant growth regulators/ concentrations	Character developments			
	No. of shoots/ explant	Average shoot height (cm)	Main shoot height (cm)	No. of leaves/shoot
BA 5.0 mg/l	$5.77 \pm 1.42c$	$0.41 \pm 0.05b$	1.78 ± 0.21	1.97 ± 0.32
TDZ 0.1 mg/l	$10.8 \pm 2.55a$	$0.49 \pm 0.03b$	1.36 ± 0.21	2.42 ± 1.26
TDZ 0.5 mg/l	$9.83 \pm 1.93b$	$0.53 \pm 0.03a$	1.23 ± 0.21	2.29 ± 0.47
C.V. (%)	23.20	9.40	29.96	35.80
F-test	*	*	ns	ns

*significant difference at $P \leq 0.05$

ns = no significant difference at $P \leq 0.05$

¹ means followed by the same letter within column are not significant difference by DMRT

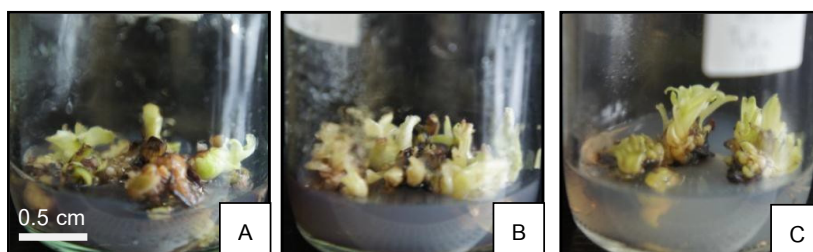


Figure 1 Multiple shoot induction of Klui Chang after culturing on culture media supplemented with BA and TDZ at different concentrations for 3 months. A. 5 mg/l BA, B. 0.1 mg/l TDZ and C. 0.5 mg/l TDZ. (Bar = 0.5 cm)

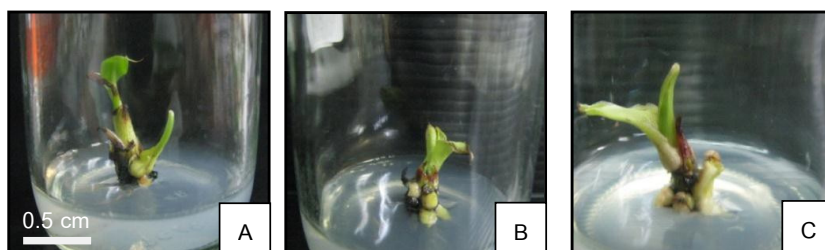


Figure 2 Main shoot height of Klui Chang after culturing on culture media supplemented with BA and TDZ at different concentrations for 3 months. A. 5 mg/l BA, B. 0.1 mg/l TDZ and C. 0.5 mg/l TDZ. (Bar = 0.5 cm)

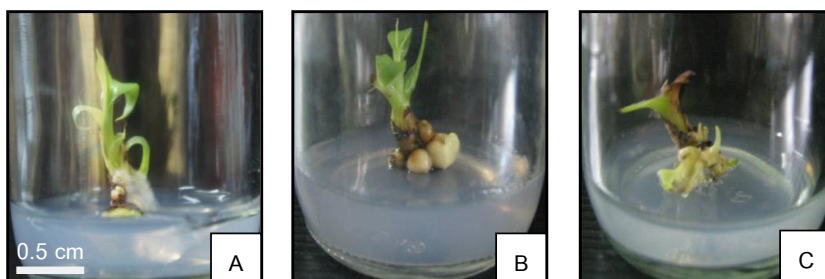


Figure 3 Leaf number of Klui Chang after cultured on media supplemented with BA and TDZ at difference concentration for 3 months. . A. 5 mg/l BA, B. 0.1 mg/l TDZ and C. 0.5 mg/l TDZ. (Bar = 0.5 cm)

สรุป

การขยายพันธุ์กล้วยช้างด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถทำได้โดยการวางเลี้ยงยอดกล้วยช้างอายุ 2 เดือน ที่ดูแลในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารแข็งสูตร MS เติม TDZ เข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 เดือน ซึ่งจะทำให้ได้จำนวนหน่อต่อยอดสูงที่สุด

คือ 10.8 หน่อต่อยอด จากนั้นย้ายหน่อที่ชักนำได้ไปวางเลี้ยงบนอาหารเดิม BA เข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 2 เดือน เพื่อชักนำการเกิดราก และความแข็งแรงของต้นก่อนย้ายออกปลูกในโรงเรือน ดังนั้นกล้วยช้าง 1 หน่อ สามารถเพิ่มปริมาณด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้ต้นกล้วยที่พร้อมออกปลูกประมาณ 1,331 ต้น ในเวลา 1 ปี

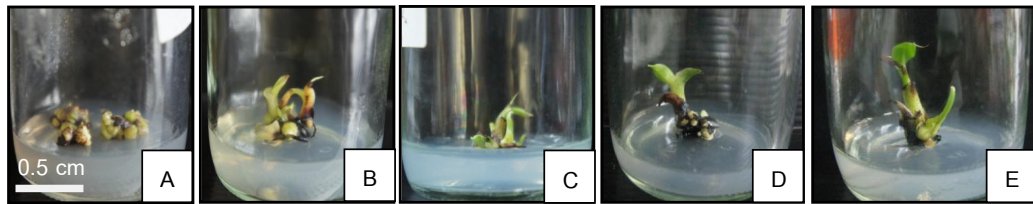


Figure 4 Development of Klui Chang plantlet after culturing shoot on MS solid media for 3 months. A, B, C = shoot cultured on medium added with 0.1 mg/l TDZ for 1, 2 and 3 months, respectively, D and E = shoot cultured on medium supplemented with 5.0 mg/l BA for 4 and 5 months. (Bar = 0.5 cm)

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนา แห่งมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์

เอกสารอ้างอิง

เบญจมาศ ศิลาชัย. 2538. กกล้วย. ภาควิชาพืชสวน. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.
 พิเศษ ทองอำไพ. 2537. ฮอโมนและสารสังเคราะห์: แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. ภาควิชาพืชสวน. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, นครปฐม.
 ศิวพงศ์ จำรัสพันธ์. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี, อุดรธานี.

สมปอง เตชะโต. 2539. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หลักการและพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ. ภาควิชาพืชศาสตร์. คณะทรัพยากรธรรมชาติ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่, สงขลา.

Gupta, D. and S. Bhargava. 2001. Thidiazuron induced regeneration in *Cuminum cyminum* L. J. Plant Biochem. Biotechnol. 10:61-62.

Huetteman, C. A. and J. E. Preece. 1993. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 33:105-119.

Kapaun, J. .A. and Z. M. Cheng. 1997. Plant regeneration from leaf tissues of *Siberian elm*. Hort. Sci. 32:301-303.

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

Singh, N. D., L. Sahoo, N. B. Sarin, and K. Jaiwal. 2003. The effect of TDZ on organogenesis and somatic embryogenesis in pigeon pea (*Cajanus cajan* L. Millsp.). Plant Science 164: 341-347.