1.ชื่อกิจกรรมงานวิจัย การขยายพันธุ์กล้วยหิน (*Musa sapientum* Linn.) ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
Micropropagation of Saba (*Musa sapientum* Linn.) by Tissue Culture Method

2.คณะผู้วิจัย

หัวหน้ากิจกรรม เพ็ญลักษณ์ ชูดี สังกัด ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี

ผู้ร่วมงาน ภัทร์วรัญญา ชมภู่ทอง สังกัด ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี

สมพร เหรียญรุ่งเรือง สังกัด ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี

3. คำสำคัญ (Key words) กล้วยหิน การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สูตรอาหาร

4. บทคัดย่อ

การขยายพันธุ์กล้วยหิน (*Musa sapientum* Linn.) ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ดำเนินการระหว่างปี 2561–2564 ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีการขยายพันธุ์กล้วยหินด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เหมาะสม วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) จำนวน 10 ซ้ำ 5 สูตรอาหารได้แก่ สูตรที่ 1 (MS+น้ำตาล 30 กรัม/ลิตร+BA 2 มก./ลิตร) สูตรที่ 2 (MS+น้ำตาล 30 กรัม/ลิตร+BA 2 มก./ลิตร+น้ำมะพร้าว 150 มล./ลิตร) สูตรที่ 3 (MS+น้ำตาล 30 กรัม/ลิตร+BA 5 มก./ลิตร) สูตรที่ 4 (MS+น้ำตาล 30 กรัม/ลิตร+BA 5 มก./ลิตร+น้ำมะพร้าว 150 มล./ลิตร) และสูตรที่ 5 (MS+น้ำตาล 30 กรัม/ลิตร+น้ำมะพร้าว 450 มล./ลิตร) ผลการทดลองพบว่า สูตรที่ 4 ให้จำนวนยอดสูงที่สุดคือ 3-5 ยอด รองลงมาคือสูตรที่ 3 ที่ให้จำนวนยอด 3-4 ยอด และสูตรที่ 2 ให้จำนวนยอด 2-3 ยอด ส่วนสูตรที่ 1 และ 5 ให้จำนวนยอดต่ำที่สุดคือ 1-2 ยอด

Abstract

Micropropagation of saba (*Musa sapientum* Linn.) by tissue culture method was carried on during 2018-2021 at Kanchanaburi Agricultural Research and Development Center. The objective was to find the optimum tissue culture method of saba propagation. The completely randomized design (CRD) with 10 replications and 5 medium included formula 1 (MS+30g/l sucrose+2 mg/l BA) formula 2 (MS+30g/l sucrose+2 mg/l BA+150 ml/l coconut water) formula 3 (MS+30g/l sucrose+5 mg/l BA) formula 4 (MS+30g/l sucrose+5 mg/l BA+150 ml/l coconut water) and formula 5 (MS+30g/l sucrose+450 ml/l coconut water) was used. The result showed that formula 4 gave the highest number of shoot (3-5 shoots) followed by formula 3 (3-4 shoots) and formula 2 (2-3 shoots). Formula 1 and 5 gave the lowest number of shoot (1-2 shoots).

5.บทนำ

5.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปี 2560 กล้วยหินเป็นพืชท้องถิ่นที่สำคัญของจังหวัดยะลา มีพื้นที่ปลูก 7,169 ไร่ ผลผลิต 5,176 ตัน สร้างรายได้ให้กับเกษตรกรในพื้นที่คิดเป็นมูลค่า 96 ล้านบาท (สำนักงานเกษตรจังหวัดยะลา, 2558) กล้วยหินสามารถนำมาบริโภคโดยตรงหรือนำมาผ่านกระบวนการแปรรูป นอกจากจะเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคแล้ว กล้วยหินยังเป็นที่นิยมนำมาเลี้ยงนกปรอดหัวโขนหรือนกกรงหัวจุก ทำให้ความต้องการกล้วยหินเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว ในขณะที่ผลผลิตในท้องตลาดไม่มีเพียงพอต่อความต้องการ ส่งผลให้ราคากล้วยหินสูงขึ้นเรื่อยๆ

สำหรับการปลูกกล้วยหินในปัจจุบันเกษตรกรขยายพันธุ์ด้วยวิธีใช้หน่อ ซึ่งมีข้อจำกัด คือ ขยายพันธุ์ได้น้อยและช้า มีการแพร่ระบาดของด้วงและไส้เดือนฝอย ทำให้ได้จำนวนน้อยไม่เพียงพอต่อความต้องการ ดังนั้นการนำเทคนิคทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาขยายพันธุ์สามารถแก้ปัญหาดังกล่าวได้เป็นอย่างดี เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยหินเป็นวิธีการกระตุ้นเซลล์หรือชิ้นส่วนพืชให้เกิดการเจริญเติบโตหรือการเปลี่ยนแปลงและพัฒนาของเนื้อเยื่อที่นำมาเพาะเลี้ยง (อภิชาต, 2544) จึงทำให้ได้ต้นใหม่จำนวนมากในระยะเวลาอันสั้น และได้ต้นกล้วยหินที่ปลอดโรคและไม่ปราศจาการเข้าทำลายของแมลงและไส้เดือนฝอย

ดังนั้นในการทดลองนี้จึงทำการศึกษาพัฒนาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการขยายพันธุ์ของกล้วยหินโดยวิธรการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในระยะแรกก่อนการขยายให้ได้ต้นพันธุ์จำนวนมากในระยะอันสั้น

5.2 การทบทวนวรรณกรรม

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยได้มีการทดลองมานานแล้ว และได้มีการทดลองกับอาหารสังเคราะห์ชนิดต่างๆ เพื่อให้ได้ปริมาณต้นที่เกิดมาก พบว่าอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย คืออาหารสังเคราะห์สูตร Murashigs and Skoog (1962) ที่เติมน้ำมะพร้าวและฮอร์โมนชนิดต่างๆ เพื่อให้ได้ปริมาณต้นอ่อนกล้วยให้มากขึ้น ดังเช่น

Wong (1986) ได้ทดลองเลี้ยงปลายยอดอ่อนของลำต้นกล้วย 22 พันธุ์ บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติมสารในกลุ่มไซโตไคนิน พบว่า การชักนำให้เกิดต้นอ่อนของกล้วยแต่ละพันธุ์สามารถเกิดได้ในอัตราที่ต่างกันและในอาหารที่เติม BA มีอัตราการเกิดต้นอ่อนที่สูงกว่าอาหารที่เติม kinetim และได้ต้นใหม่ที่แข็งแรง มีอัตราการรวดชีวิตหลังจากย้ายออกจากขวดทดลองสูง

Kalimuthu และคณะ (2007) ได้วางส่วนปลายยอดกล้วยหินบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมด้วย NAA เข้มข้น 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักน้าการเกิดยอดใหม่ได้ร้อยละ 95 และจำนวนยอดเฉลี่ย 3 ยอดต่อหนึ่งชิ้นส่วนที่วางเลี้ยง

ราฮีมาและสะมะแอ (2554) ทดลองศึกษาสูตรอาหาร 6 สูตร โดยใช้อาหารสูตร MS+ น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตรเป็นสูตรพื้นฐานเปรียบเทียบระหว่างการใช้อาหารเหลวและอาหารแข็ง เพิ่ม BA 5 และ 8 มิลลิกรัมต่อลิตรหรือน้ำมะพร้าวอ่อน 450 มิลลิลิตรต่อลิตร เพื่อใช้ในการขยายพันธุ์กล้วยหินระยะแรก พบว่า

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารแข็งมีจำนวนและการพัฒนายอดมากกว่าอาหารเหลวเฉลี่ยมากที่สุด 0.7 ยอด และยอดมีความยาวเฉลี่ยสูงสุด 11.7 มิลลิเมตร

อรุณี (2557) ได้ขยายพันธุ์ปลายยอดกล้วยหินด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติม BA ผงถ่าน และน้ำมะพร้าวความเข้มข้นต่างๆ พบว่า การเติมผงถ่านในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลดการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อเยื่อ ส่วนการเติม BA น้ำมะพร้าวช่วยส่งเสริมการเกิดยอดรวมเพิ่มขึ้น

5.3 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

ศึกษาเทคโนโลยีการผลิตกล้วยหิน รวมทั้งเป็นการนำเทคโนโลยีของกรมวิชาการเกษตรเข้าสู่กลุ่มเป้าหมายได้อย่างมีประสิทธิภาพ

5.4 ขอบเขตของโครงการวิจัย

ขอบเขตของงานวิจัยนี้ ดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี เพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยหิน

6. ระเบียบวิธีวิจัยของโครงการวิจัย

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

<u>ขั้นตอนที่ 1</u> ศึกษาสูตรอาหารการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยหิน

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u>

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. หน่อพันธุ์กล้วยหิน จำนวน 1 สายพันธุ์ ได้แก่ กล้วยหินจาก ต.ถ้ำทะลุ อ.บันนังสตา จ.ยะลา
2. เครื่องมือที่ใช้ในการเตรียมอาหาร ได้แก่ เครื่องชั่งไฟฟ้า เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง หม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำ
3. เครื่องแก้ว
4. เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการย้ายเนื้อเยื่อพืช
5. สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารสูตร Murashige และ Skoog (1962)
6. สารเคมีควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ 6-benzylamino purine (BA)
7. น้ำมะพร้าว

แบบและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomizer Design : CRD) จำนวน 10 ซ้ำๆ ละ 1 ขวดๆ ละ 4 ชิ้นส่วน 5 กรรมวิธี ได้แก่

สูตรที่ 1 MS + น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร + BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 2 MS + น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร + BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร

สูตรที่ 3 MS + น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร + BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 4 MS + น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร + BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร + น้ำมะพร้าว 450 มิลลิลิตรต่อลิตร

สูตรที่ 5 MS + น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร + น้ำมะพร้าว 450 มิลลิลิตรต่อลิตร

วิธีปฏิบัติการทดลอง มีขั้นตอนการปฏิบัติดังนี้

1. นำหน่อของกล้วยหินมาที่ตัดแต่งให้มีขนาดเล็ก มาทำความสะอาดด้วยการแช่ในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 1 นาที
2. ล้างทำความสะอาดอีกครั้งด้วยการล้างในแอลกอฮอล์ 30 และ 15 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 และ 15 นาที ตามลำดับ
3. ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง
4. ตัดแต่งตาข้างและตายอด ให้มีขนาด 0.5-1 เซนติเมตร แล้วผ่าแบ่งออกเป็น 4 ส่วนอย่างละเท่าๆ กัน
5. วางชิ้นส่วนของยอดกล้วยหินบนอาหารสังเคราะห์สูตรต่างๆ ตามแผนการทดลอง วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 24 ± 2 องศาเซลเซียส ให้แสง 12 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 1,000 ลักซ์
6. บันทึกอัตราการเกิดยอดรวมและจำนวนยอดรวม เปรียบเทียบกันโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design, CRD)

สถานที่ดำเนินงาน

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี อำเภอเมือง จังหวัดกาญจนบุรี

ระยะเวลา

เริ่มต้น ตุลาคม 2560 ถึง กันยายน 2564

7.ผลการวิจัย

กล้วยหินที่นำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหาร จำนวน ๕ สูตร ได้แก่

สูตรที่ 1 MS + น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร + BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 10 หน่อ พบว่าให้จำนวนยอดค่อนข้างน้อย คือ จำนวน 1-2 หน่อ

สูตรที่ 2 MS + น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร + BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 10 หน่อ พบว่าให้จำนวนยอดปานกลาง คือ 2-3 หน่อ

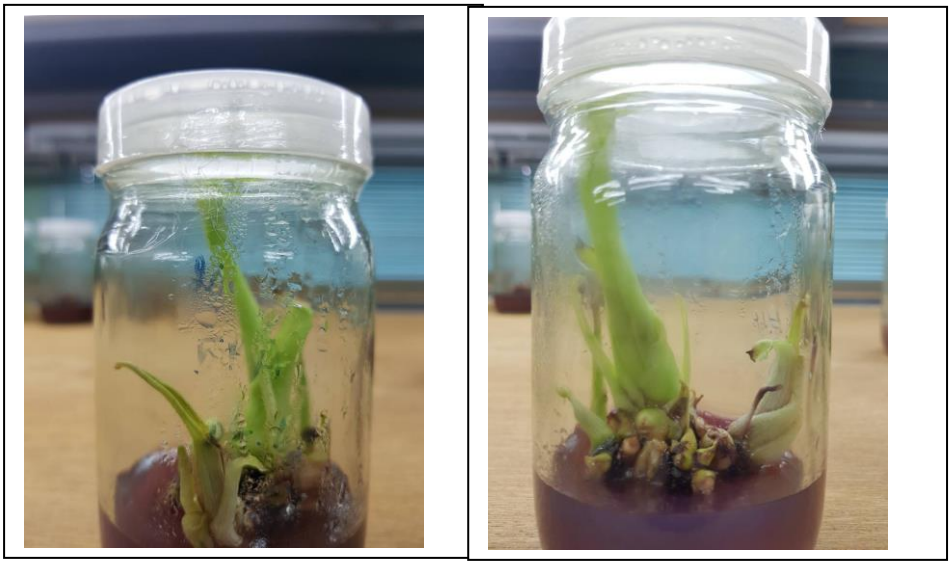
สูตรที่ 3 MS + น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร + BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 10 หน่อ พบว่าให้จำนวนยอดค่อนข้างมากปริมาณมาก คือ 3-4 หน่อ

สูตรที่ 4 MS + น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร + BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 10 หน่อ พบว่าให้จำนวนยอดปริมาณมาก คือ 3-5 หน่อ

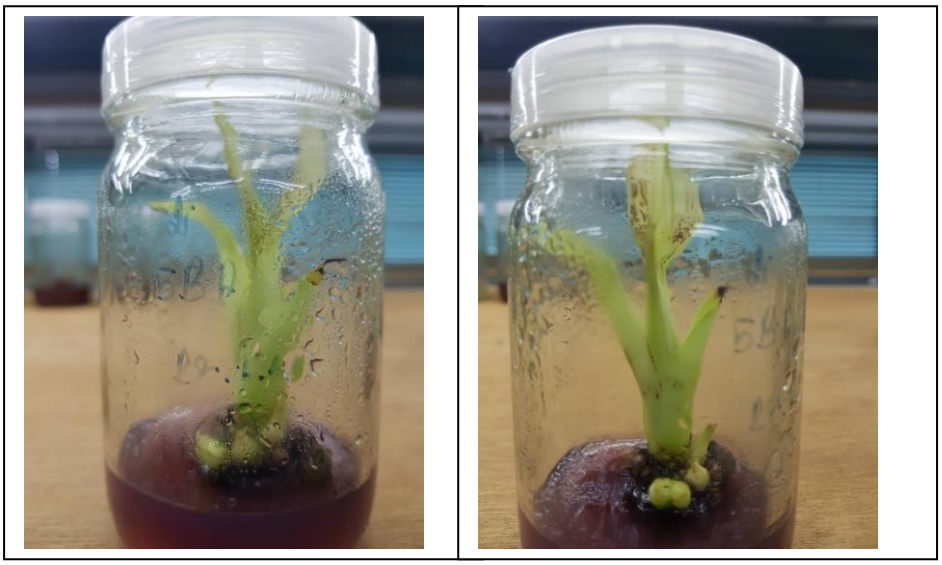
สูตรที่ 5 MS + น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร + น้ำมะพร้าว 450 มิลลิลิตรต่อลิตร จำนวน 10 หน่อ

พบว่าให้จำนวนยอดปริมาณน้อย คือ 1-2 หน่อ

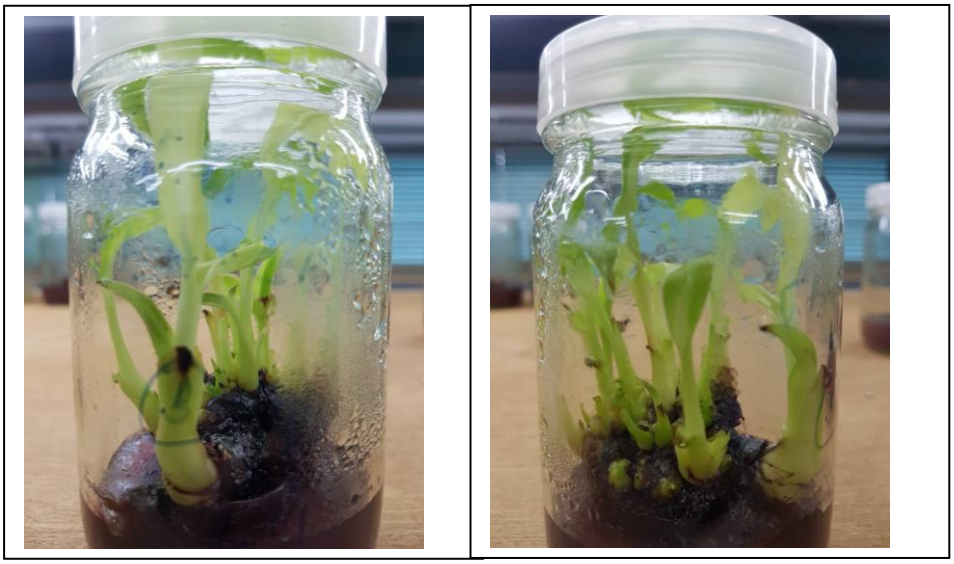
ภาพที่ 1 หน่อกล้วยหินบนอาหาร MS + น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร + BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร



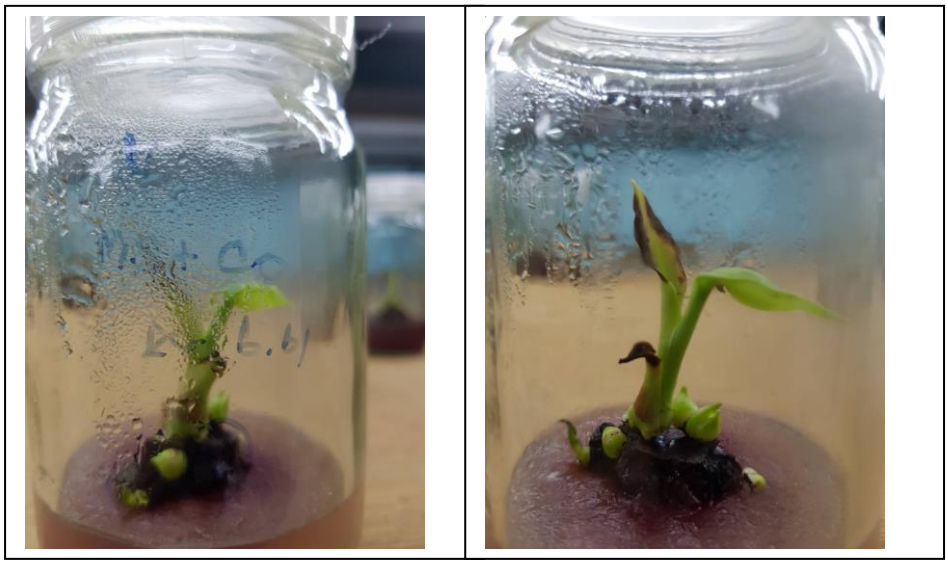
ภาพที่ 2 หน่อกล้วยหินบนอาหาร MS + น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร + BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร



ภาพที่ 3 หน่อกล้วยหินบนอาหาร MS + น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร + BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 4 หน่อกล้วยหินบนอาหาร MS + น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร + BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตรต่อลิตร



ภาพที่ 5 หน่อกล้วยหินบนอาหาร MS + น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร + น้ำมะพร้าว 450 มิลลิลิตรต่อลิตร

8.อภิปรายผล

การผลการทดลอง พบว่าสูตรที่ 3 MS + น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร + BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตรและสูตรที่ 4 MS + น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร + BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิกรัมต่อลิต เป็นสูตรอาหารที่มีแนวโน้มในการนำมาขยายพันธุ์กล้วยหิน (*Musa sapientum* Lin.) ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพราะสูตรที่ 3 เป็นสูตรอาหารที่ทำให้ต้นกล้วยหินแตกยอดดีและมีจำนวนค่อนข้างมาก คือ 3-4 หน่อ ส่วนสูตรอาหารที่ 4 เป็นสูตรอาหารที่ให้ต้นกล้วยหินแตกยอดดีและจำนวนหน่ออ่อนปริมาณมาก คือ 3-5 หน่อ

9.สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

กล้วยหินที่นำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหาร จำนวน ๕ สูตร ได้แก่

สูตรที่ 1 MS + น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร + BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 2 MS + น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร + BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 3 MS + น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร + BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 4 MS + น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร + BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร + น้ำมะพร้าว 150 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 5 MS + น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร + น้ำมะพร้าว 450 มิลลิลิตรต่อลิตร

พบว่าสูตรอาหารที่ 1,2,3 และ 4 เป็นสูตรอาหารที่ทำให้กล้วยหินแตกยอดได้ดี ส่วนสูตรอาหารที่ 1 ให้จำนวนยอดค่อนข้างน้อย สูตรอาหารที่ 2 ให้จำนวนยอดปานกลาง สูตรอาหารที่ 3 และ 4 ให้จำนวนยอดปริมาณมาก และสูตรอาหารที่ 5 เป็นสูตรอาหารที่แตกยอดน้อย

เนื่องจากงานวิจัยนี้ถูกระงับโครงการวิจัย ทำให้ไม่สามารถสรุปผลการทดลองได้

10. เอกสารอ้างอิง

ราฮีมา วาแมดีซา และ สะมะแอ ดือราแม. 2554. การเพิ่มจำนวนกล้วยหินโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. Princess of Naradhiwas University Journal ปีที่ 3 ฉบับที่ 3 กันยายน-ธันวาคม 2554 . น.47-59

อรุณี ม่วงแก้วงาม. 2557. การขยายพันธุ์กล้วหิน (*Musa sapientum* Lin.) ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ, กรุงเทพฯ.

Kalimuthu K, Saravanakumar M. and Senthikumar R, 2007. *In vitro* micropropagation of *Musa sapientum* L. (Cavendish Dwarf). African Journal of Biotechnology 6: 1106-1109.

Wong, W.C. 1986. *In vitro* propagation of banana (*Musa* spp.): initiation, proliferation and development of shoot tip cultures on defined media. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 6: 159-166.