การคัดเลือกแคลลัสกล้วยหอมทองทนต่อสภาวะขาดน้ำในสภาพปลอดเชื้อ

In vitro Selection of Water-Deficit Tolerant Callus of Banana cv. 'Kluai Hom Tong'

มณฑา วงศ์มณีโรจน์[1*] สุลักษณ์ แจ่มจำรัส[1] และ รงรอง หอมหวล[1]

Monthar Wongmaneeroj[1*] Surak Jamjumrus[1] and Rongrong Homhual[1]

Abstract: The objective of this research was to select callus of banana 'Kluai Hom Tong' tolerated to water deficit by using polyethylene glycol (PEG) 6000 as a selective agent in aseptic conditions. The results showed that the MS medium containing 5 mg/L BA was suitable for inducing the highest number of shoots and initiated callus at the base of shoots. The 0.5 cm calli were cultured on MS medium containing 5 mg/L BA and 0 (control) 5, 10, 15 and 20% (w/v) of PEG for 2 months. It was found that MS medium containing BA 5 mg/L without PEG had an average shoot number of 5.1. Number of shoots derived from callus were decreased when they were cultured on MS media containing 5 -15% PEG. The color of the calli changed to black color and the lethal percentage was 50-60% in MS medium with 10 -15% PEG, while all calli changed to black at the level of 20% PEG in 1 month of culture. After calli were further cultured in the same media for one more month, the lethal percentage was increased. Then, all of the PEG-treated calli were transferred into MS medium containing 5 mg/L BA without PEG. The results showed that the new buds were induced from the survival callus derived from the media with 5-15% PEG, while none of the calli from 20% PEG developed into plantlet. In conclusion, the use of PEG at the level of 10-15% had a tendency to select the water-deficit tolerant callus of banana 'Kluai Hom Tong' at the laboratory level.

Keywords: banana: Kluai Hom Tong, water-deficit tolerant, *in vitro*

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกแคลลัสกล้วยหอมทองที่ทนต่อสภาวะขาดน้ำ โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อแคลลัสกล้วยหอมทองร่วมกับสาร polyethylene glycol (PEG) 6000 เพื่อคัดเลือกแคลลัสทนต่อสภาวะขาดน้ำ ในสภาพปลอดเชื้อ ผลการทดลองพบว่า เมื่อนำยอดกล้วยหอมทองที่ปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มก./ล.สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดมากที่สุด และเกิดแคลลัสที่มีจุดกำเนิดยอดสีเหลืองอมเขียวที่บริเวณฐาน นำแคลลัสดังกล่าวขนาด 0.5 ซม. เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มก./ล. และ PEG ความเข้มข้น 0 (control) 5,10,15 และ 20 % (w/v) เป็นเวลา 2 เดือน พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มก./ล. ปราศจากสาร PEG มีการเจริญเติบโตเกิดยอดเฉลี่ยจำนวน 5.1 ยอด สูตรอาหารที่เติม PEG ความเข้มข้น 5-15% พบว่าแคลลัสพัฒนาเกิดเป็นยอดจำนวนลดลง ที่ระดับ PEG 10 – 15% และแคลลัสเปลี่ยนเป็นสีดำ มีอัตราการตาย 50-60% และที่ระดับ PEG 20% พบแคลลัสเป็นสีดำทั้งหมด หลังจากเลี้ยงในอาหารเป็นเวลา 1 เดือน เมื่อเลี้ยงแคลลัสต่อไปในอาหารสูตรเดิมอีก 1 เดือน พบเปอร์เซนต์การตายเพิ่มขึ้น จากนั้นนำแคลลัสที่ผ่านการทดลองด้วยสาร PEG ทุกสูตร ย้ายเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มก./ล. ปราศจากสาร PEG พบแคลลัสที่รอดชีวิตจากอาหารสูตรที่เติมสาร PEG ความเข้มข้นตั้งแต่ 5-15%มีการพัฒนาแตกตายอดใหม่ ในขณะที่แคลลัสในอาหารที่เติม PEG 20% ไม่มีการพัฒนา สรุปว่าการใช้ PEG ที่ระดับ 10-15 % มีแนวโน้มคัดเลือกแคลลัสกล้วยหอมทองที่ทนต่อสภาวะขาดน้ำได้ในระดับห้องปฏิบัติการ

คำสำคัญ: กล้วยหอมทอง ทนสภาวะขาดน้ำ สภาพปลอดเชื้อ

---

[1]ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง ศูนย์วิจัยและบริการวิชาการ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน นครปฐม 73140

Central Laboratory and Greenhouse Complex, Research and Service Center , Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

Agricultural Science and Management J. 3 (1) : 88-94 (2020)

คำนำ

กล้วยหอมทอง “Kluai Hom Thong” มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Musa acuminata* (AAA group) ชื่อสามัญ Gros Michel อยู่ในวงศ์ MUSACEAE มีคุณค่าทางอาหารสูง ประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรท ฟอสฟอรัส แคลเซียม โปแตสเซียม วิตามิน ไฟเบอร์ และเทนนินที่ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ จากการสำรวจตลาดส่งออกกล้วยหอมทอง (กรมการค้าภายใน กระทรวงพาณิชย์, 2562) พบว่าประเทศไทยไม่สามารถส่งออกกล้วยหอมทองไปยังประทศญี่ปุ่นให้เพียงพอต่อความต้องการได้ โดยสามารถส่งได้ประมาณปีละ 3,000 - 4,000 ตันเท่านั้น แต่ความต้องการมีมากถึง 8,000 ตันต่อปี ซึ่งสาเหตุที่ทำให้กล้วยหอมทองไม่เพียงพอต่อความต้องการเนื่องจากผลผลิตสดกล้วยหอมทองของเกษตรกรที่ปลูกได้นั้นไม่ได้คุณภาพตามมาตรฐานที่ทางประเทศญี่ปุ่นกำหนด และผลผลิตต่ำเนื่องจากภาวะแห้งแล้งจากการขาดน้ำ ถ้ากล้วยหอมทองขาดน้ำจะส่งผลให้การขยายตัวของเนื้อเยื่อส่วนใบ การคลี่ใบได้รับผลกระทบเป็นลำดับแรก เมื่อดินเริ่มแห้ง ปากใบจะปิด แต่ว่าใบยังคงมีการสูญเสียน้ำอยู่ ซึ่งอาจจะเกิดจากแรงดันของราก กล้วยหอมทองใช้น้ำปริมาณมากในการเจริญเติบโต เมื่อประสบสภาวะแล้งจึงมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของผลและผลผลิต (Turner *et al*., 2007) มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสภาวะการขาดน้ำของกล้วยในสภาพแปลงทดลอง แต่เนื่องจากการทดลองใช้เวลา และใช้พื้นที่จำนวนมากในการศึกษาทดลองดังกล่าว ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้นำเสนอวิธีการทดลองเพื่อศึกษาสภาวะขาดน้ำของกล้วยหอมทองในสภาพปลอดเชื้อโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และสาร polyethylene glycol (PEG) 6000 ที่มีคุณสมบัติควบคุม water potential (WP) ของสารละลาย ช่วยลดแรงตึงผิว ไม่เป็นพิษต่อเซลล์พืช และมีความชอบน้ำสูง (พิชญา, 2553) จากคุณสมบัติดังกล่าว ทำให้สามารถจำลองอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้เกิดสภาวะขาดน้ำได้ งานวิจัยจึงนำเทคนิคนี้มาใช้เป็นเครื่องมือในการคัดเลือกแคลลัสกล้วยหอมทองที่ทนต่อสภาวะขาดน้ำ และชักนำให้เกิดต้นกล้าจากแคลลัสที่คัดเลือก เพื่อจะได้นำต้นกล้าที่ได้ไปปลูกทดสอบสภาวะขาดน้ำในโรงเรือนต่อไป จะทำให้ช่วยย่นระยะเวลาการทำวิจัย การดูแลแปลง และประหยัดการใช้พื้นที่จำนวนมาก

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตายอด ตาข้างของกล้วยหอมทองในสภาพปลอดเชื้อ

ฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อตายอด และตาข้างของกล้วยหอมทอง ด้วยน้ำยาคลอร็อกซ์ 15 % นาน 15 นาที และ 10 % นาน 10 นาที และล้างด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จากนั้นนำมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 สัปดาห์ เพื่อสังเกตการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ เมื่อได้ชิ้นส่วนตายอด ตาข้าง ที่ปลอดเชื้อแล้วนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารทดลองสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5 และ 10 มก./ล. เพื่อชักนำให้เกิดยอดหรือแคลลัส เพาะเลี้ยงในห้องควบคุมอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ความเข้มแสงประมาณ 54 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2- 4 เดือน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ๆ ละ 5 ยอดต่อสูตรอาหาร วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SPSS 23 for Windows

หลังจากครบ 4 เดือนแล้ว นำยอดหรือแคลลัสที่เกิดขึ้นในอาหารสูตรทดลองมาขยายและเพิ่มปริมาณยอดหรือแคลลัสในสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

2.การคัดเลือกแคลลัสกล้วยหอมทองที่ทนต่อสภาวะขาดน้ำโดยใช้สาร Polyethylene Glycol (PEG) 6000 ในสภาพปลอดเชื้อ

นำแคลลัสกล้วยหอมทองจากการทดลองที่1มาตัดให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 ซม. เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 5 มก./ล. และ polyethylene glycol (PEG) 6000 ความเข้มข้น 0 , 5 ,10 ,15 และ 20 % (w/v) โดยแต่ละความเข้มข้นที่เติม PEG เพิ่มปริมาณวุ้นเป็น 12 ก./ล. วางที่ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เปลี่ยนอาหารทุก 1 เดือน เป็นเวลา 2 เดือน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) เพื่อศึกษาการเจริญเติบโต เช่น จำนวนยอด ความสูงของยอด ความกว้างของแคลลัส อัตราการรอดชีวิตของแคลลัส โดยพิจารณาจากค่า LD_{50}

ทำการทดลองในอาหาร 5 สูตรละ 10 ซ้ำ ๆ ละ 3 ชิ้น วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SPSS 23 for Windows

3.การศึกษาการพัฒนาของแคลลัสกล้วยหอมทองที่ผ่านการทดสอบด้วยสาร Polyethylene Glycol (PEG) 6000

นำแคลลัสกล้วยหอมทองที่ผ่านการทดสอบด้วยสาร PEG 6000 จากการทดลองที่ 2 เป็นเวลา 2 เดือน ย้ายมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มก./ล. ปราศจากสาร PEG เป็นเวลา 1 เดือน สังเกตลักษณะของแคลลัส การเกิดยอด และ เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต ทำการทดลองในอาหาร 5 สูตร ๆ ละ 10 ซ้ำ ๆ ละ 3 ชิ้น วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SPSS 23 for Windows

ผลการทดลองและวิจารณ์

1.การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อตายอด ตาข้างของกล้วยหอมทองในสภาพปลอดเชื้อ

นำตายอด และตาข้างกล้วยหอมทองมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog,1962) ที่ไม่เติมสารเร่งการเจริญเติบโตเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ย้ายชิ้นส่วนที่ปลอดเชื้อมาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5 และ 10 มก./ล. เป็นเวลา 2-4 เดือน พบว่า ชิ้นส่วนตายอดและตาข้าง มีการเกิดยอดใหม่มากที่สุด คือ จำนวน 1.46 ยอด และ 3.46 ยอด ในอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BA 5 มก./ล. หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 2 และ 4 เดือน ตามลำดับ (Figure 1) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติกับสูตรอาหารอื่นๆ และเมื่อเลี้ยงต่อไปในอาหารสูตรเดิมเป็นเวลา 2 เดือน พบว่าในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 5 , 7.5 และ 10 มก./ล. มีการเกิดแคลลัสที่บริเวณฐานหรือโคนต้นกล้วยหอมและแคลลัสมีการเกิดจุดกำเนิดยอดสีเหลืองอมเขียว ซึ่งสามารถพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ และพบว่ายอดและแคลลัสสามารถขยายขนาดและเพิ่มปริมาณมากที่สุดในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มก./ล. (Figure 2) ในกรณีของอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเกิดจำนวนยอดน้อยที่สุด หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน (Table 1)

Table 1 Growth of 'Kluai Hom Tong' in MS media containing 0, 2.5, 5, 7.5 and 10 mg /L BA for 2 and 4 months

BA (mg /L)	Average shoot number[1/]	
	2 months	4 months
0	0.80±0.20[c]	1.53±0.12[d]
2.5	1.13±0.12[b]	2.40±0.12[c]
5	1.46±0.12[a]	3.46±0.20[a]
7.5	1.33±0.12[ab]	3.00±0.20[b]
10	1.40±0[a]	2.46±0.12[c]
CV%	0	1

[1/] Means within the same column followed by the same letter or letters indicate no statistical difference by using DMRT , significantly different at $p<0.05$

Agricultural Science and Management J. 3 (1) : 88-94 (2020)

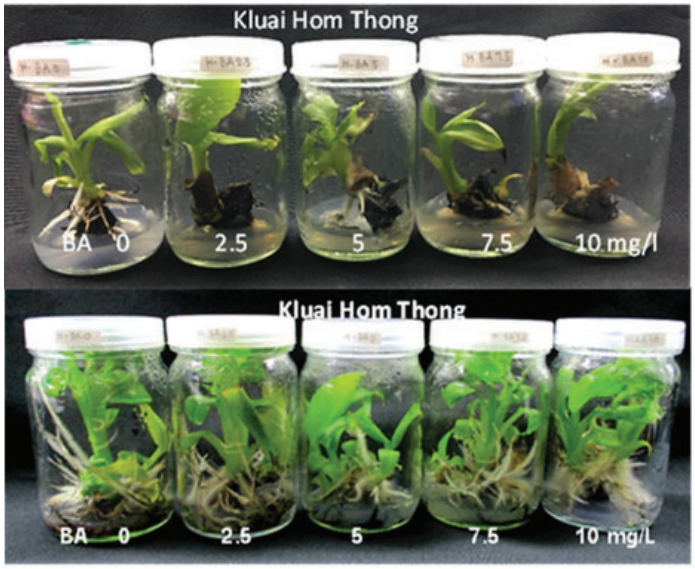

Figure 1 Young shoots of 'Kluai Hom Tong' were initiated on MS media with 0, 2.5, 5,7.5 and 10 mg /L BA cultured for 2 months (A) and 4 months (B)

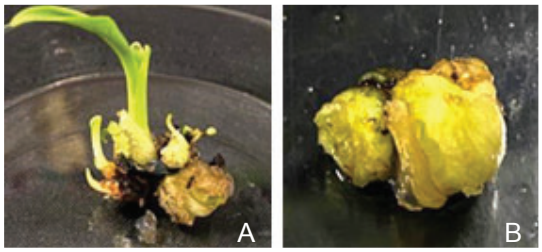

Figure 2 Many shoots and callus of 'Kluai Hom Tong' were occured on MS media containing 5 mg /L BA (A) and the characteristic of callus for the PEG experiment (B)

2.การคัดเลือกแคลลัสกล้วยหอมทองที่ทนต่อสภาวะขาดน้ำโดยใช้สาร Polyethylene Glycol (PEG) 6000 ในสภาพปลอดเชื้อ

นำแคลลัสกล้วยหอมทอง ขนาด 0.5 ซม.เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มก./ล. และเติม PEG 6000 ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15 และ 20% (w/v) เป็นเวลา 2 เดือน พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มก./ล. ปราศจากสาร PEG แคลลัสมีการเจริญเติบโตเกิดยอดเฉลี่ยจำนวน 5.1 ยอด สำหรับอาหารที่เติม PEG ความเข้มข้น 5% การเกิดจำนวนยอดลดลง (3.4 ยอด)(Table 2) เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของ PEG ที่เพิ่มขึ้น (10-20%) พบว่า แคลลัสมีการพัฒนาเกิดเป็นยอดลดลง ลักษณะแคลลัสมีสีดำ เกิดยอดได้น้อยและยอดที่เกิดมีขนาดเล็กลง ที่ระดับความเข้มข้น PEG 10-20% พบ แคลลัสเปลี่ยนเป็นสีดำ และที่ระดับ PEG 20% พบแคลลัสเป็นสีดำทั้งหมดหลังจากเลี้ยงในอาหารเป็นเวลา 1 เดือน

เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์การตาย พบว่า เมื่อเลี้ยงแคลลัสในอาหารเป็นเวลา 1 เดือน ที่ระดับความเข้มข้น PEG 10-15% มีอัตราการตายประมาณ 50-60% (LD_{50}) และ ที่ระดับ PEG 20% แคลลัสมีสีดำทั้งหมด เมื่อเลี้ยงแคลลัสต่อไปในอาหารที่มี PEG ความเข้มข้น 10-20% เป็นเวลา 2 เดือน พบว่า อัตราการตายเพิ่มขึ้นเป็น 80-100% (Table 2) ทั้งนี้เนื่องจาก PEG ซึ่งสารเป็นออสโมติคัมที่มีคุณสมบัติในการดูดน้ำและ ลดแรงดันออสโมซิสในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ส่งผลให้อาหารมีค่าออสโมติก โพเทนเชียล (osmotic potential) ต่ำ จึงทำให้เซลล์เกิดสภาวะเครียดเนื่องจากขาดน้ำ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้น PEG เป็น 20% ทำให้แคลลัสกล้วยหอมทองมีอัตราการตายเพิ่มขึ้นเนื่องจากความเข้มข้นของ PEG ที่สูงเกินไปจึงไม่เหมาะสมในการคัดเลือก (Figure 3) ดังนั้นจึงควรเลือก PEG ความเข้มข้นตั้งแต่ 10-15% ในการคัดเลือกแคลลัสกล้วยหอมทองที่ทนต่อสภาวะขาดน้ำโดยพิจารณาจากค่า LD_{50}

นอกจากนี้ยังมีรายงานสนับสนุนว่า แคลลัสของพืชจะชะลอการเจริญเติบโตหรือตายขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นของ PEG ซึ่งพบการทดลองทำนองเดียวกันในการชักนำให้เกิดแคลลัสเพื่อสร้างพันธุ์ทนร้อนหรือทนต่อสภาวะขาดน้ำโดยใช้ PEG หรือ mannitol ในพืชต่างๆ เช่น มะเขือเทศ (Cano *et al*.,1998) ข้าว (Adkins *et al*.,1995) และอ้อย (รงรองและคณะ, 2553; Wagih *et al*., 2004 ; Errabii *et al*., 2006) และมีรายงาน การใช้ PEG 6000 ความเข้มข้น 2% ในสภาพปลอดเชื้อสามารถสร้าง osmotic stress ในอาหารเกิดสภาวะขาดน้ำไม่รุนแรงสามารถชักนำให้เนื้อเยื่อกล้วยหอมพันธุ์ 'Dwarf Cavendish' มีน้ำหนักแห้งเพิ่มมากที่สุด (Saeedavi *et al*., 2017)

Table 2 Growth of 'Kluai Hom Tong' subjected to various concentrations of PEG 6000 for 2 months

PEG 6000 (% w/v)	Shoot number		Callus diameter (cm)		shoot height (cm)		Lethal percentage	
	1 month	2 months	1 month	2 months	1 month	2 months	1 month	2 months
0	4.60±1.84[a]	5.10±2.23[a]	1.53±0.65[a]	2.03±0.52[a]	1.40±0.81[a]	1.87±0.95[a]	0	0
5	2.00±1.20[a]	3.40±1.17[b]	1.26±0.22[b]	1.26±0.24[b]	0.97±0.71[b]	0.97±0.37[b]	0	0
10	1.00±1.08[b]	0.70±1.15[c]	1.00±0.96[c]	0.90±0.20[c]	0.07±0.42[c]	0.06±0.42[c]	50	80
15	0.10±0.31[b]	0.20±0.42[c]	0.53±0.41[d]	0.53±0.06[d]	0.06±0.40[c]	0.02±0.13[c]	60	80
20	0±0[b]	0±0[c]	0.49±0.12[d]	0.49±0.03[d]	0±0[c]	0±0[c]	100	100
CV%	45	73	12	4	10	13		

[1/] Means within the same column followed by the same letter or letters indicate no statistical difference by using DMRT, significantly different at $p < 0.05$

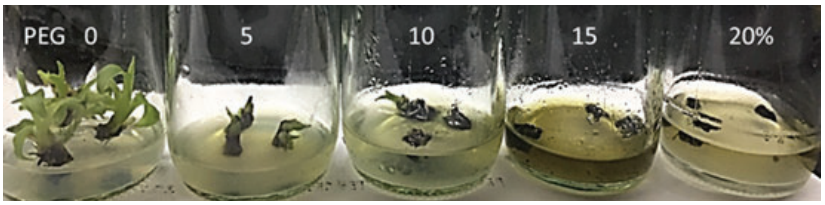

Figure 3 Growth of 'Kluai Hom Tong' callus in MS media containing 5 mg /L BA with 0, 5, 10, 15 and 20 % of PEG 6000 (w/v) for 1 month

3.การศึกษาการพัฒนาของแคลลัสกล้วยหอมทองที่ผ่านการทดสอบด้วยสาร PEG 6000

นำแคลลัสและยอดกล้วยหอมทองที่ผ่านการทดสอบด้วยสาร PEG 6000 จากการทดลองข้อ 2 มาเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มก./ล. ปราศจากสาร PEG เป็นเวลา 1 เดือน พบว่า แคลลัสและยอดจากอาหารที่เติมสาร PEG 5% มีอัตราการรอดชีวิต 100% และมียอดแตกใหม่เฉลี่ย 2.1 ยอด ความกว้างเฉลี่ยของเนื้อเยื่อประมาณ 0.8 ซม. ความสูงยอดเฉลี่ย 1.01 ซม. ยอดที่ได้มีสีเขียว แต่มีอาการอวบน้ำ ส่วนในอาหารที่เติม PEG 10 และ 15% แคลลัสที่รอดชีวิตเริ่มมีการแตกตายยอดเป็นตุ่มขาว โดยอาหารที่เติม PEG 15% มีจำนวนยอดเฉลี่ย 0.1 ยอด ความสูงยอดเฉลี่ย 0.02 ซม. ยอดแสดงอาการอวบน้ำ ในกรณีอาหารที่เติม PEG 20% พบแคลลัสมีสีดำ ยังไม่มีการพัฒนา (Table 3 Figure 4)

งานวิจัยนี้เป็นงานทดลองเบื้องต้นในการคัดเลือกแคลลัสกล้วยหอมทองที่ทนต่อสภาวะขาดน้ำ หากมีการศึกษาเพิ่มเติมควรทดลองย้ายแคลลัสกลับไปทดลองในอาหารสูตรที่มี PEG ซ้ำอีกโดยเลือกใช้ PEG ความเข้มข้นต่ำ เช่น 2-5% เพื่อให้เกิดการคัดเลือกได้แคลลัสที่ทนต่อสภาวะขาดน้ำได้จริง ก่อนจะ

Agricultural Science and Management J. 3 (1) : 88-94 (2020)

นำไปปลูกทดสอบสภาวะขาดน้ำในโรงเรือนทำนองเดียวกับงานวิจัยของ Mahmound.*et al*., (2017) ที่ทดลองนำกล้วยไปทดสอบความทนแล้งอีกครั้งในอาหารสูตรที่ใส่ PEG 2 % ร่วมกับ trehalose 20-100 มิลลิโมลาร์

Table 3 Growth parameter of 'Kluai Hom Tong' in MS medium containing 5 mg /L BA for 1 month after transferring from various concentrations of PEG 6000

PEG 6000 (% w/v)	Shoot number	Tissue diameter (cm)	Shoot height (cm)	Survival percentage (%)	Tissue culture characteristic
0	5.1±1.37[a]	1.72±0.65[a]	0.48±0.81[a]	100	Normal
5	2.1±1.25[b]	0.80±0.22[b]	0.01±0.17[b]	100	Green shoot and succulent
10	0.5±1.05[c]	0.46±0.97[c]	0.46±0.97[c]	20	Initiate white shoot
15	0.1±0.31[c]	0.42±0.91[c]	0.02±0.42[c]	20	Initiate white shoot
20	0±0[c]	0.31±0.12[c]	0±0[c]	0	Black tissue
CV%	37	15	17		

[1/] Means within the same column followed by the same letter or letters indicated no statistical difference by using DMRT, significantly different at $p<0.05$

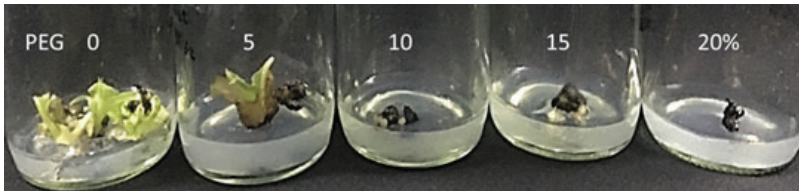

Figure 4 Tissue culture of 'Kluai Hom Tong' treated with (0-20%) PEG 6000 were subcultured onto MS media with 5 mg /L BA without PEG and cultured for 1 month

สรุป

สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตเป็นยอดและแคลลัสของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยหอมทอง คือ สูตรอาหาร MS ที่เติม BA 5 มก./ล. และสามารถคัดเลือกแคลลัสกล้วยหอมทองที่ทนต่อสภาวะขาดน้ำในสภาพปลอดเชื้อได้ในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มก./ล. และ สาร polyethylene glycol (PEG) 6000 ความเข้มข้นตั้งแต่ 10-15 % เป็นเวลา 2 เดือน โดยพิจารณาการตายของเนื้อเยื่อจากค่า LD_{50} นำเนื้อเยื่อที่คัดเลือกจากอาหารที่ใส่ PEG มาเพาะลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มก./ล. ปราศจาก PEG 6000 เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าเนื้อเยื่อที่รอดชีวิตจากอาหารสูตรที่เติมสาร PEG 10-15% เริ่มมีการแตกตายอดเป็นตุ่มขาว และพัฒนาเป็นสีเขียวเพิ่มมากขึ้น จึงควรศึกษาพัฒนาการและเพิ่มปริมาณยอดเพื่อนำไปทดสอบสภาวะขาดน้ำในโรงเรือนต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กรมการค้าภายใน กระทรวงพาณิชย์. 2562. สถานการณ์ปัจจุบันกล้วยหอมทอง ประจำสัปดาห์ที่1 เดือนพฤษภาคม 2562. (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: www.kbp.ops.moc.go.th/ewt_dl_link.php?nid=1874 (13 กุมภาพันธ์ 2563)

พิชญา ดิลกพัฒนมงคล. 2553. ตอบปัญหาเรื่องยาโดยเภสัชกรหน่วยคลังข้อมูลยา.(ระบบออนไลน์).แหล่งข้อมูล: www.phamacy.mahidol.ac.th/dic (17 กุมภาพันธ์ 2563)

รงรอง หอมหวล, เรวัติ เลิศฤทัยโยธิน รัตนา เอการัมย์ และ ชัยณรงค์ รัตนกรีฑากุล. 2553. การคัดเลือกแคลลัสอ้อยทนแล้งโดยใช้สาร Polyethylene glycol ในสภาพปลอดเชื้อ. การประชุมทางวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 7 น. 1681-1688.

Adkins, S.W., R. Kunanuvatchaidach and I.D. hGodwin.1995. Somaclonal variation in rice: Drought tolerance and other agronomic characters. Australian J. Bot..43: 201-209.

Cano, E.A., A. Perez., V. Moreno, M. Caro and M. Bolarin.1998. Evaluation of salt tolerance in cultivated and wild tomato species through in vitro shoot apex culture. Plant Cell, Tisssue Organ Cult. 53(1): 19-26.

Errabii T, C.. B. Gandonou, H. Essalmani, J. Abrini, M. Idaomar and N. Skali-Senhaji. 2006. Growth, proline and ion accumulation in sugarcane callus cultures under drought-induced osmotic stress and its subsequent relief. African J. Biotechnol. 5: 1488-1493.

Mahmound. R. A., O.S. Hassan, A. Abou-Hashish and A. Aminin. 2017. Role of trehalose during recovery from drought stress in micropropagated banana (Musa spp.) transplants. RJPBCS.8(2): 1339-1345.

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

Saeedavi. L., A. Soleimani and M.E. Amiri. 2017. Improvement of shoot-tip culture proliferation in banana using PEG6000. Iranian J.Plant Physiol. 7(3): 2105-2111.

Turner, D.W., J.A. Forstescue and D.S. Thomas. 2007. Environmental physiology of the bananas (Musa spp.) Braz. J. Plant Physiol. 19(4): 463-484.

Turner, D.W., J.A. Forstescue and D.S. Thomas. 2007. Environmental physiology of the bananas (Musa spp.) Braz. J. Plant Physiol. 19(4): 463-484.