การขยายพันธุ์และเก็บรักษาต้นกล้วยหิน (*Musa balbisiana* 'Kluai Hin')
ในสภาพปลอดเชื้อ

Micropropagation and *in vitro* Preservation of *Musa balbisiana* 'Kluai Hin'

นรารัตน์ พรหมศร

Nararatn Promsorn

T_644001

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Biotechnology

Prince of Songkla University

2547

การขยายพันธุ์และเก็บรักษาต้นกล้วยหิน (*Musa balbisiana* 'Kluai Hin') ในสภาพปลอดเชื้อ

Micropropagation and *in vitro* Preservation of *Musa balbisiana* 'Kluai Hin'

นรารัตน์ พรหมศร

Nararatn Promsorn

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Biotechnology

Prince of Songkla University

2547

ชื่อวิทยานิพนธ์	การขยายพันธุ์และเก็บรักษาต้นกล้วยหิน (*Musa balbisiana* 'Kluai Hin') ในสภาพปลอดเชื้อ
ผู้เขียน	นางสาวนรารัตน์ พรหมศร
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ

คณะกรรมการที่ปรึกษา

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.คำนูณ กาญจนภูมิ)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.พูนสุข ประเสริฐสรรพ์)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.คำนูณ กาญจนภูมิ)

.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.พูนสุข ประเสริฐสรรพ์)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อารักษ์ จันทศิลป์)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี นวลศรี)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุรพล อารีย์กุล)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์	การขยายพันธุ์และเก็บรักษาต้นกล้วยหิน (*Musa balbisiana* 'Kluai Hin') ในสภาพปลอดเชื้อ
ผู้เขียน	นางสาวนรารัตน์ พรหมศร
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2547

บทคัดย่อ

เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนตายอด ตาข้าง และปลีของกล้วยหิน (*Musa balbisiana* 'Kluai Hin') บนอาหารแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) พบว่า ชิ้นส่วนตายอดและตาข้างเหมาะสำหรับเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้น ชิ้นส่วนที่วางเลี้ยงแบบตะแคงให้จำนวนยอดสูงสุด 5.75 ยอดต่อหนึ่งชิ้นส่วนเริ่มต้น การย้ายเลี้ยงทุกๆ 3 สัปดาห์ช่วยลดการปล่อยสารสีน้ำตาลของชิ้นส่วนได้ การเลี้ยงชิ้นส่วนด้วยอาหารสูตร MS ที่มี BA 44 ไมโครโมลาร์ ที่สภาวะอุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 12 สัปดาห์ เหมาะสำหรับการเพิ่มจำนวนยอดกล้วยหิน (21.22 ยอดต่อหนึ่งชิ้นส่วนเริ่มต้น) ในขณะที่ชิ้นส่วนที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS ที่มี TDZ เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นปุ่มปม ยอดกล้วยหินสามารถเกิดรากได้ภายใน 3 สัปดาห์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต และสามารถปรับตัวได้เมื่อย้ายลงเวอร์มิคูไลต์ ก่อนปลูกลงแปลง โดยมีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษายอดกล้วยหินที่สภาวะ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 6 เดือน โดยมีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 25 เปอร์เซ็นต์

การทดลองเบื้องต้นสำหรับการหุ้มชิ้นส่วนตายอดกล้วยหินด้วยโซเดียมอัลจิเนตเพื่อศึกษาการงอกเป็นต้นและประโยชน์ของการใช้เทคโนโลยีเมล็ดเทียมของกล้วยหิน พบว่า อัตราการงอกของเมล็ดเทียมที่หุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนต 3 เปอร์เซ็นต์ที่เตรียมด้วยน้ำกลั่น อาหารเหลวสูตร MS และชิ้นส่วนตายอดที่ไม่ได้หุ้ม บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ เท่ากับ 34.17 73.33 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อัตราการงอกลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อระยะเวลาในการเก็บเพิ่มขึ้น กรดแอบซิสซิคความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีอิทธิพลทำให้อัตราการงอกลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเก็บเมล็ดเทียมเป็นเวลา 15 วัน ภายใต้สภาวะมีหรือไม่มีแสง ที่ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส บนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ การชักนำให้เกิดต้นจากเมล็ดเทียมด้วยเวอร์มิคูไลต์ยังไม่ให้ผลที่น่าพอใจ

Thesis Title	Micropropagation and *in vitro* Preservation of *Musa balbisiana* 'Kluai Hin'
Author	Miss Nararatn Promsorn
Major Program	Biotechnology
Academic Year	2004

Abstract

Apical buds, lateral buds and floral apices of *Musa balbisiana* 'Kluai Hin', were cultured on MS (Murashige and Skoog, 1962) medium supplemented with 22 μM BA and 15% (v/v) CW. The results showed that apical buds and lateral buds were the suitable starting materials. Orientation of explants with tilt position produced the highest shoots number (5.75 shoots per explant). Subculturing at 3-week intervals reduced browning of explants. MS medium supplemented with 44 μM BA and incubated at 25 ± 2°C with a 16-h photoperiod for 12 weeks was suitable for micropropagation of 'Kluai Hin' since 21.22 shoots per explant were obtained. Whereas, explants cultured on MS medium supplemented with TDZ differentiated to clusters. Shoot produced roots within 3 weeks when transferred to MS basal medium. Root induction for such plantlets, after acclimatization with vermiculite, reached a 100% survival when transplanted in field. Sucrose was a good carbon source for preservation of shoots at 25 ± 2°C under a 16-h photoperiod for 6 months, achieved a 25% survival.

Preliminary experiments on sodium alginate encapsulation of 'Kluai Hin' shoot tips were performed, in order to evaluate the effect of this technique on the regrowth to plantlets, and the applicability of the artificial seeds technology to *Musa balbisiana* 'Kluai Hin'. Regrowth rate of artificial seeds when encapsulated with sodium alginate was prepared with distilled water, MS medium and non-encapsulated on MS medium supplemented with 22 μM BA were 34.17 73.33 and 50%, respectively. Regrowth rate decreased significantly with increasing storage time. Abscisic acid at 0.5 mg/l had significantly influence on regrowth when stored synthetic seed for 15 days under light or dark at 25 ± 2°C on MS medium containing 22 μM BA. Sowing of artificial seeds on vermiculite did not result in satisfactory conversion.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ด้วยความช่วยเหลือและเอื้อเฟื้อจาก รองศาสตราจารย์ ดร. คำนูณ กาญจนภูมิ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาช่วยจัดหาเอกสารประกอบการวิจัย และให้คำปรึกษา ตลอดจนช่วยแนะนำและแก้ไขปัญหาต่างๆ อย่างใกล้ชิดและเอาใจใส่ ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.พูนสุข ประเสริฐสรรพ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม สำหรับคำแนะนำต่างๆ และขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ซึ่งประกอบไปด้วย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อารักษ์ จันทศิลป์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จรัสศรี นวลศรี ที่ได้กรุณาแนะนำตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (BRT) และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย

ขอขอบคุณอาจารย์อุปถัมภ์ มีสวัสดิ์ ที่ให้คำแนะนำและช่วยแก้ไขปัญหาต่างๆ ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ นักศึกษาในหน่วยวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางพืช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ที่คอยให้กำลังใจ และช่วยเหลือตลอดระยะเวลาการวิจัย

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ คุณปู่ คุณย่า ที่เป็นกำลังใจ คอยสนับสนุน และให้ความรักความเข้าใจเสมอมา และขอบคุณน้อง ๆ และญาติทุกคนที่คอยเป็นแรงใจที่สำคัญยิ่ง

นรารัตน์ พรหมศร

สารบาญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(4)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
สารบาญ	(6)
รายการตาราง	(7)
รายการตารางภาคผนวก	(8)
รายการภาพประกอบ	(9)
บทที่	
1 บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
การตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	19
2 วิธีการทดลอง	20
วัสดุ	20
อุปกรณ์	20
วิธีการ	21
3 ผลการทดลอง	30
4 บทวิจารณ์	53
5 บทสรุป	62
บรรณานุกรม	63
ภาคผนวก	68
การเผยแพร่ผลงานวิชาการ	71
ประวัติผู้เขียน	72

รายการตาราง

ตาราง		หน้า
1.	การให้คะแนนลักษณะต่างๆ ของกล้วย	6
2.	อาหารสูตร MS ที่มี BA TDZ และน้ำมะพร้าวความเข้มข้นต่างๆ กัน เพื่อชักนำให้มีการเพิ่มจำนวนยอดกล้วยหิน	26
3.	ผลของการวางเลี้ยงชิ้นส่วนแบบต่างๆ ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนยอดกล้วยหิน	32
4.	ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มจำนวนยอดกล้วยหิน	40
5.	อัตราการรอดชีวิตของยอดกล้วยหินที่เก็บรักษาบนสำลีที่มีสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ที่สภาวะต่างๆ เป็นเวลา 6 เดือน	45
6.	ผลของการหุ้มชิ้นส่วนตายอดกล้วยหินด้วยโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยตัวทำละลายต่างๆ กันต่ออัตราการงอกของเมล็ดเทียมต้นกล้วยหิน	49
7.	ผลของระยะเวลาในการเก็บต่ออัตราการงอกของเมล็ดเทียมต้นกล้วยหิน	49
8.	ผลของสภาวะในการเก็บต่ออัตราการงอกของเมล็ดเทียมต้นกล้วยหิน	50
9.	ผลของกรดแอบซิสซิคต่ออัตราการงอกของเมล็ดเทียมต้นกล้วยหิน	51

รายการตารางภาคผนวก

ตาราง		หน้า
1.	ส่วนประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)	68
2.	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเพิ่มจำนวนยอดกล้วยหินเมื่อวางเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดแบบต่างๆ กัน	69
3.	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเพิ่มจำนวนยอดกล้วยหินเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตไซโทไคนินชนิดและความเข้มข้นต่างๆ กัน	69
4.	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการงอกของเมล็ดเทียมจากการหุ้มชิ้นส่วนตายอดกล้วยหินด้วยโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยตัวทำละลายต่างๆ กัน	69
5.	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการงอกของเมล็ดเทียมเมื่อเก็บเป็นระยะเวลาต่างๆ กัน	70
6.	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการงอกของเมล็ดเทียมเมื่อเก็บที่สภาวะมีและไม่มีแสง	70
7.	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการงอกของเมล็ดเทียมเมื่อชิ้นส่วนตายอดได้รับกรดแอบซิสซิคก่อนหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนต	70

รายการภาพประกอบ

ภาพที่		หน้า
1.	ส่วนภายในของหน่อกล้วยเมื่อผ่าตามยาว	8
2.	ผลกล้วยหิน (*Musa balbisiana* 'Kluai Hin')	12
3.	ลักษณะหน่อ ตายอดและตาข้างของกล้วยหิน a, b) ขนาดของหน่อที่ใช้ในการทดลองนี้ (ความยาว 30 - 60 เซนติเมตร) c) หน่อที่ตัดจนเหลือความยาว 20 - 25 เซนติเมตร ลอกกาบชั้นนอก และฟอกด้วยน้ำยาทำความสะอาดแล้ว d) ชิ้นส่วนที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อสองขั้นตอน e) ชิ้นส่วนที่ผ่านการตัดแต่งแล้ว f) ชิ้นส่วนที่วางเลี้ยงบนอาหารชักนำต้น	23
4.	ลักษณะปลีของกล้วยหิน a, b) ปลีที่ใช้ในการทดลองนี้ c) ปลีที่ลอกส่วนกาบนอกออก ฟอกฆ่าเชื้อสองขั้นตอน และลอกกาบจนมีขนาดความยาวประมาณ 4 - 5 เซนติเมตร d) ชิ้นส่วนที่วางเลี้ยงบนอาหารชักนำต้น	24
5.	การวางเลี้ยงชิ้นส่วนแบบต่างๆ บนอาหารเลี้ยง	25
6.	การพัฒนาเป็นต้นของตายอดกล้วยหิน a) ตายอดเกิดการบวมหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 8 วัน b) ตายอดพัฒนาเพิ่มจำนวนเป็นตาเล็กๆ หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 15 วัน c) ตาเล็กๆ เจริญพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 49 วัน	30
7.	การพัฒนาเป็นต้นของปลีกล้วยหิน a) ปลีส่วนที่สัมผัสกับอาหารเปลี่ยนจากสีขาวครีมเป็นสีดำหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 2 วัน ในขณะที่ส่วนที่ไม่สัมผัสกับอาหารเปลี่ยนเป็นสีเขียว หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 8 วัน b) เนื้อเยื่อพัฒนาเป็นตุ่มเล็กๆ จำนวนมากหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 15 วัน c) ตุ่มมีการพัฒนาเป็นต้นหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 84 วัน	31
8.	การพัฒนาของชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 0 (a) 4.4 (b) 22 (c) และ 44 ไมโครโมลาร์ (d) เป็นเวลา 6 สัปดาห์	33
9.	การเจริญเติบโตเป็นต้นของกล้วยหินเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี TDZ 0.1 (a) และ 0.5 ไมโครโมลาร์ (b) เป็นเวลา 3 สัปดาห์	34

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
10.	a) การเกิดกลุ่มยอดของกล้วยหินที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี TDZ 0.1 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 9 สัปดาห์ b) การเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเป็นตุ่มและยอดเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี TDZ 0.5 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 9 สัปดาห์	35
11.	การเจริญเติบโตเป็นยอดของกล้วยหินเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี TDZ 0.1 (a) และ 0.5 ไมโครโมลาร์ (b) เป็นเวลา 12 สัปดาห์	35
12.	การพัฒนาของชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี TDZ 1 (a) 5 (b) และ 10 ไมโครโมลาร์ (c) เป็นเวลา 3 สัปดาห์	36
13.	การพัฒนาของชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี TDZ 1 (a) 5 (b) และ 10 ไมโครโมลาร์ (c) เป็นเวลา 12 สัปดาห์	37
14.	การเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเป็นตุ่มและยอดเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี TDZ 5 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์	38
15.	การพัฒนาของชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี TDZ 0.1 (a) 0.5 (b) 1 (c) 5 (d) และ 10 ไมโครโมลาร์ (e) และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์	38
16.	การพัฒนาของชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี TDZ 0.1 (a) 0.5 (b) 1 (c) 5 (d) และ 10 ไมโครโมลาร์ (e) และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์	39
17.	a) การเกิดรากของต้นกล้วยหินเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เป็นเวลา 3 สัปดาห์ b) การปรับสภาพต้นกล้วยหินด้วยเวอร์มิคูไลต์ c) ต้นกล้วยหินหลังจากปลูกลงดินเป็นเวลา 2 เดือน	42
18.	ยอดกล้วยหินที่ผ่านการเก็บรักษาบนสำลีที่มีสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ (จากซ้ายไปขวา) ที่สภาวะอุณหภูมิต่างกันเป็นเวลา 6 เดือน (a) อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในที่มืด (b) อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน (c) อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในที่มืด (d) อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน	44
19.	ต้นกล้วยหินที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน	47

รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
20.	เมล็ดเทียมที่ผลิตด้วยสารละลายโซเดียมอัลจิเนตที่ละลายด้วยน้ำกลั่น (a) และอาหารเหลวสูตร MS (b)	48
21.	เมล็ดเทียมที่มีการงอกเป็นต้นหลังจากเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์เป็นเวลา 15 วัน	52

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

กล้วยเป็นไม้ผลเมืองร้อนที่สำคัญของโลก เนื่องจากเป็นอาหารซึ่งมีคุณค่าทางอาหารสูง โดยบางประเทศรับประทานเป็นอาหารหลัก นอกจากนี้ส่วนอื่นๆของกล้วยยังสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้นานับประการ สามารถปลูกและมีการเจริญเติบโตได้ดีในทุกภาคของประเทศไทย ปริมาณการปลูกกล้วยของประเทศไทยอยู่ในอันดับสามของทวีปเอเชีย โดยมีประเทศฟิลิปปินส์ปลูกมากเป็นอันดับหนึ่ง ซึ่งมีปริมาณการส่งออกต่างประเทศจนติดอันดับโลก (เบญจมาศ ศิลาย้อย, 2534)

สำหรับกล้วยหิน (*Musa balbisiana* 'Kluai Hin') มีจีโนมอยู่ในกลุ่ม BBB เป็นพืชเก่าแก่คู่สองฝั่งแม่น้ำปัตตานี แหล่งใหญ่พบในเขตอำเภอบันนังสตา จังหวัดยะลา ลักษณะเด่นของกล้วยหินเมื่อเปรียบเทียบกับกล้วยชนิดอื่นมีหลายประการ เช่น เป็นกล้วยที่มีรสชาติอร่อย ไม่ฝาด เนื้อไม่ยุ่ย เนื้อในสีขาวอมเหลือง มีลักษณะแข็งเล็กน้อยถึงแม้จะสุกก็สามารถเก็บไว้ได้นานกว่ากล้วยชนิดอื่นเมื่ออยู่ในสภาพเดียวกัน (นพรัตน์ บำรุงรักษ์, 2536) การขยายพันธุ์โดยวิธีดั้งเดิมมักใช้หน่อ ซึ่งจะมีข้อจำกัดคือ อาจถูกทำลายโดยศัตรูพืช เช่น ด้วง ไส้เดือนฝอย ประกอบกับกล้วยหินเป็นพืชที่มีโครโมโซมสามชุดซึ่งไม่มีเมล็ด ทำให้ได้ต้นกล้วยจำนวนน้อยไม่เพียงพอกับความต้องการ ดังนั้นจึงได้มีการนำเทคนิคทางด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งสามารถขยายพันธุ์กล้วยหินและเก็บรักษาลักษณะทางพันธุกรรมเดิมไว้ โดยการใช้ส่วนต่างๆ เช่น หน่อ หรือปลี มาเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ร่วมกับการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโทไคนิน เพื่อกระตุ้นให้เกิดต้นจำนวนมาก และมีอัตราการรอดชีวิตสูงเมื่อปลูกลงแปลง

การเก็บรักษาพันธุ์พืชโดยปกติจะเก็บในแปลง ซึ่งจะต้องเสียค่าใช้จ่ายในการดูแลรักษาสูง อีกทั้งยังสิ้นเปลืองเนื้อที่ในการเก็บรักษา และอาจมีโรคระบาดหรือภัยธรรมชาติเกิดขึ้นโดยเฉพาะกับกล้วยหินที่ปลูกตามแถบลุ่มแม่น้ำจะมีโอกาสสูญพันธุ์ได้ง่ายกว่าที่อื่น เนื่องจากการถูกกัดเซาะและพังทลายของดิน การเก็บรักษาพืชไว้ในหลอดทดลองจึงเป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยรักษาพันธุ์พืชไว้ได้ โดยปกติการเลี้ยงชิ้นส่วนในหลอดทดลองนั้นจะจัดสภาวะเพื่อให้มีการเจริญเติบโตของพืช เมื่อพืชมีอัตราการเจริญเติบโตสูง จึงต้องมีการย้ายเลี้ยงสู่อาหารใหม่ (subculture) บ่อยครั้ง ทำให้ต้องใช้แรงงาน เวลา และอาหารมาก จึงมีวิธีการยับยั้งการเจริญเติบโตโดยการเก็บแบบแช่แข็ง

(cryopreservation) ที่อุณหภูมิ –196 องศาเซลเซียส (Elleuch *et al.*, 1998) ทำให้สามารถเอาชนะข้อจำกัดข้างต้นได้ ต่อมาได้มีการใช้วิธีเก็บเซลล์แขวนลอย (cell suspension) ของกล้วยแบบแช่แข็ง แต่พบว่า การทำให้เกิดเซลล์แขวนลอยของกล้วยนั้นต้องใช้เวลา 6-12 เดือนโดยขึ้นอยู่กับพันธุ์ด้วย จึงได้มีการใช้ปลายยอดกล้วยแทน และพบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 7-58 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น (Van den houwe *et al.*, 1995) อีกทั้งระบบการเก็บแบบแช่แข็งนี้ จะทำให้เซลล์พืชเสียหายได้เนื่องจากเกิดผลึกน้ำแข็งในช่องว่างภายในเซลล์ ดังนั้นจึงต้องมีสารที่สามารถป้องกันการเสียหายดังกล่าวได้คือ 'Cryoprotectants' เช่น Glycerol Propylene glycol และ Polyethylene glycol อย่างไรก็ตาม สารดังกล่าวและตู้แช่แข็งนั้นมีราคาแพง (Shiota *et al.*, 1999) จึงมีวิธีอื่นในการเก็บรักษาซึ่งประหยัดและสะดวกกว่าวิธีข้างต้น ซึ่งพืชมีการเจริญเติบโตในอัตราที่ช้า เป็นการประหยัดเวลา แรงงาน ค่าใช้จ่าย สามารถคงสภาพและมีชีวิตได้ยาวนาน ซึ่งสามารถใช้เป็นแนวทางในการเก็บรักษาพืชชนิดอื่นต่อไปได้

นอกจากนี้ ยังมีเทคโนโลยีการผลิตเมล็ดเทียมหรือเมล็ดสังเคราะห์ซึ่งเป็นการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาประยุกต์ใช้ เพื่อช่วยให้สามารถนำต้นพืชจากสภาพปลอดเชื้อออกปลูกลงแปลงหรือเรือนเพาะชำได้โดยตรงโดยไม่ต้องมีการชักนำรากและอนุบาลต้นอ่อน หรือเพื่อการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนพืชปลอดเชื้อระหว่างห้องปฏิบัติการ และเนื่องจากเมล็ดเทียมมีขนาดเล็กทำให้ง่ายต่อการขนส่ง และการจัดการ นอกจากนี้การผลิตเมล็ดเทียมยังเป็นการอนุรักษ์พันธุ์พืชได้อีกวิธีหนึ่งด้วย

จุดมุ่งหมายของงานวิจัยนี้ เพื่อเพิ่มจำนวนต้นกล้วยหินโดยใช้อาหารสังเคราะห์ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตประเภทไซโทไคนิน จากนั้นเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมของกล้วยหินโดยชะลอการเจริญเติบโต และใช้เทคโนโลยีการผลิตเมล็ดเทียมเพื่อความสะดวกในการแลกเปลี่ยนหรือขนย้ายชิ้นส่วนพืช

การตรวจเอกสาร

ประวัติกล้วย (พานิชย์ ยศปัญญา, 2541)

กล้วยที่ปลูกกันอยู่ในปัจจุบันมีถิ่นกำเนิดอยู่ทางเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แม้ว่าประวัติความเป็นมาของกล้วยจะไม่แพร่หลายมากนักในสมัยนั้น แต่ก็เป็นที่รู้จักกันว่ากล้วยเป็นผลไม้ชนิดแรกที่คนปลูกเพื่อเป็นอาหาร ประชาชนในแถบนี้ได้ใช้ประโยชน์จากกล้วยมาเป็นเวลาช้านาน ใบของกล้วยป่าใช้ห่อของหรือสกัดเอาเส้นใยที่เป็นประโยชน์ได้ กล้วยที่สามารถรับประทานได้เป็นพันธุ์ที่เกิดขึ้นจากการกลายพันธุ์ (mutation) ของกล้วยป่าซึ่งมีรสหวาน ต่อมามีการคัดเลือกและปรับปรุงให้ได้พันธุ์ที่ดีขึ้นเรื่อยๆ แล้วใช้หน่อขยายพันธุ์สืบต่อๆ กันมา และเป็นไปได้ว่ากล้วยที่ไม่มีเมล็ดนั้นเกิดขึ้นมานานแล้วเช่นกัน การผสมพันธุ์ในระยะหลังๆ ซึ่งมีการผสมกับกล้วยอื่นๆ หลายชนิด จึงทำให้ได้พันธุ์กล้วยไม่มีเมล็ด เมื่อนำกล้วยมาปลูก ลักษณะใหม่ๆ หรือลักษณะที่กลายออกมามักจะดำรงอยู่ได้ เพราะไม่ต้องต่อสู้กับอุปสรรคที่เกิดกับกล้วยเหมือนเมื่อขึ้นอยู่ในป่าแบบธรรมชาติ เท่ากับเป็นการขจัดลักษณะที่เลวออกนั่นเอง สำหรับการแพร่กระจายของกล้วยนั้น ได้มีการอ้างอิงถึงกล้วยในอินเดีย ตั้งแต่ 600 ปีก่อนคริสตศักราชและได้กล่าวถึงการกลายพันธุ์ของกล้วยเมื่อ 2000 ปีมาแล้ว ในจีนเริ่มมีการกล่าวถึงกล้วยเมื่อ ค.ศ. 200 ส่วนแถบเมดิเตอร์เรเนียนไม่มีการปลูกกล้วยจนกระทั่ง ค.ศ. 650 ในระหว่างนี้ชาวอาหรับได้เดินทางค้าขายกับแอฟริกา และได้นำกล้วยเข้าไปยังแอฟริกาด้วย ต่อมาในราวศตวรรษที่ 15 ชาวยุโรปได้มาสำรวจแถบชายฝั่งแอฟริกาตะวันตก พบว่าได้มีการปลูกกล้วยกันอย่างแพร่หลายแล้ว

ในปี ค.ศ. 1400 ชาวโปรตุเกสได้นำกล้วยไปยังหมู่เกาะคานารี และตั้งแต่นั้นมาก็เริ่มนำเข้าไปยังซีกโลกตะวันตก และในตอนต้นศตวรรษที่ 16 มีการนำสายพันธุ์ไปยังซานโตโดมิงโก (Santo Domingo) พันธุ์กล้วยที่รู้จักกันเป็นครั้งแรกในซีกโลกตะวันตกคือ 'Silk Fig' และ 'French Plantain' ซึ่ง Linneaus ได้ใช้เป็นรากฐานในการจำแนกพันธุ์

ในตอนต้นศตวรรษที่ 19 มีการนำกล้วยพันธุ์หอมทอง (Gros Michel) กล้วยพันธุ์หอมค่อม (Dwarf Cavendish) เข้ามายังหมู่เกาะคาริบเบียน รวมทั้งพันธุ์อื่นๆ อีกหลายพันธุ์มาจากสวน Kew มารวบรวมไว้ที่โดมินิกัน เมื่อปี ค.ศ. 1902 ในเขตร้อนมีการปลูกกล้วยหลายๆ พันธุ์เพื่อใช้เป็นอาหาร ส่วนมากปลูกในแถบเส้นศูนย์สูตรขึ้นไปทางเหนือและลงมาทางใต้ กระจายไปยังสภาพพื้นที่ซึ่งมีอุณหภูมิ ดิน และความชื้นเหมาะสม พันธุ์กล้วยที่สำคัญในตลาดการค้าของโลกในสมัยนั้นคือ พันธุ์กล้วยหอมทอง ซึ่งถึงแม้ว่าจะไม่ต้านทานต่อโรคตายพราย (panama disease) ก็ตาม โดยเข้าใจว่าพันธุ์นี้ถูกนำมาสู่ซีกโลกตะวันตกครั้งแรกโดยนักพฤกษศาสตร์ชาวฝรั่งเศสในปี ค.ศ.

1836 ส่วนในตำนานเก่าแก่ของสเปนกล่าวว่า มีผู้พบพันธุ์กล้วยที่มีแป้งมากซึ่งรู้จักกันในนามว่า 'Plantain' ในแถบร้อนของอเมริกา เมื่อปี ค.ศ. 1505

ปัจจุบันมีการเพาะปลูกกล้วยอยู่ทั่วไปทั้งประเทศในทวีปแอฟริกา เอเชีย และหมู่เกาะในมหาสมุทรแปซิฟิก และเนื่องจากกล้วยมีถิ่นกำเนิดอยู่ทางเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จึงเชื่อได้ว่ามีการปลูกกล้วยในประเทศไทยมาเป็นเวลาช้านาน ยิ่งไปกว่านั้นยังมีผู้กล่าวว่ามีกล้วยมากถึง 13 พันธุ์ที่มีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศไทยนี่เอง

การจัดจำแนกกล้วยตามหลักอนุกรมวิธานมีดังนี้ (Simmonds, 1966)

Class	Monocotyledoneae
Order	Zingiberales
Family	Musaceae
Genus	*Musa*
Section	Eumusa

พืชวงศ์ Musaceae จัดแบ่งออกได้เป็น 2 สกุลตามลักษณะการแตกกอ (พานิชย์ ยศปัญญา, 2541) คือ

1) สกุลกล้วยโทน (*Ensete*) ได้แก่กล้วยที่ไม่มีการแตกกอ จะขึ้นเป็นต้นเดี่ยวๆ มีอายุประมาณ 2 ปีหรือมากกว่า ผลรับประทานไม่ได้ เมื่อให้เมล็ดแล้วต้นก็จะตายไป ใช้ทำแป้งหรือเอาเส้นใย กล้วยสกุลนี้ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด

2) สกุลกล้วยแตกกอ (*Musa*) ได้แก่กล้วยที่ปลูกกันอยู่ทั่วๆไปในปัจจุบัน มีการแตกกอหรือแตกหน่อ ผลสามารถนำมาใช้เป็นอาหารและรับประทานได้

กล้วยที่อยู่ในสกุลแตกกอนี้ แบ่งออกเป็น 5 พวก (section) คือ

1. Eumusa กล้วยพวกนี้เป็นพวกที่ใหญ่และสำคัญที่สุด ประกอบด้วยกล้วยที่ใช้เป็นอาหารเป็นส่วนใหญ่ นอกจากนี้ยังใช้ทำเส้นใย มีการกระจายทั่วไปตามแถบร้อนและแถบอบอุ่น มีถิ่นกำเนิดในอินเดียตอนเหนือ อินโดจีน และหมู่เกาะซามัว

2. Australimusa กล้วยพวกนี้มีความสำคัญทางเศรษฐกิจน้อยกว่าพวกแรก ที่สำคัญ ได้แก่ พวกกล้วยป่านมนิลา (*M. textiles*) หรือบางทีเรียก 'อะบากา' (Abaca or Manila Hemp) มีมากในประเทศฟิลิปปินส์ นอกจากนี้มีกล้วย 'ฟีไอ' (Fei) เป็นกล้วยที่มีแป้งมาก ใช้เป็นอาหารของคนในหมู่เกาะแปซิฟิก มีถิ่นกำเนิดอยู่ในรัฐควีนส์แลนด์ ประเทศออสเตรเลียถึงฟิลิปปินส์

3. Cullimusa ไม่ค่อยมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ส่วนใหญ่ใช้เป็นไม้ประดับ มีถิ่นกำเนิดในอินโดจีนและอินโดนีเซีย เช่น กล้วยรัตนกัทลี

4. Rhodochlamys ไม่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ มีถิ่นกำเนิดในอินเดียตอนเหนือ อินโดจีน ส่วนใหญ่ใช้เป็นไม้ประดับเช่นกัน เช่น กล้วยบัว

5. Ingentimusa พบในปาปัวนิวกินีบนที่สูงระหว่าง 1000-2100 เมตร ใช้เป็นไม้ประดับ

การจัดแบ่งกล้วยปลูก (Simmonds, 1966)

เนื่องจากกล้วยกินได้ในพวก Eumusa ถือกำเนิดมาจากกล้วยป่า 2 สปีชีส์ คือ *M. acuminata* และ *M. balbisiana* ซึ่งกล้วยทั้งสองสปีชีส์นี้มีลักษณะแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด ดังนั้นกล้วยกินได้พันธุ์ต่างๆ จึงอาจจำแนกโดยใช้พื้นฐานของ Simmonds และ Shepherd ซึ่งได้ใช้การให้คะแนน (scoring method) เพื่อเป็นการบ่งชี้ถึงความสัมพันธ์ของกล้วยป่าที่เป็นบรรพบุรุษทั้ง 2 ชนิด โดยใช้ลักษณะภายนอก 15 ลักษณะ (ตารางที่ 1) ดังนี้

- กล้วยที่มีลักษณะเหมือน *M. acuminata* ถือว่าได้จีนมาจากกล้วยป่า ให้ 1 คะแนน มีจีโนมเป็น A

- กล้วยที่มีลักษณะเหมือน *M. balbisiana* ถือว่าได้จีนมาจากกล้วยตานี ให้ 5 คะแนน มีจีโนมเป็น B

- ถ้าลักษณะของกล้วยอยู่ระหว่าง 2 สปีชีส์ให้คะแนน 2 3 หรือ 4 แล้วแต่จีโนมของกล้วยทั้งสองชนิด คือ

15-23 คะแนน	จัดอยู่ในกลุ่มจีโนม	AA, AAA
26-46 คะแนน	จัดอยู่ในกลุ่มจีโนม	AAB
ประมาณ 49 คะแนน	จัดอยู่ในกลุ่มจีโนม	AB
59-63 คะแนน	จัดอยู่ในกลุ่มจีโนม	ABB
ประมาณ 67 คะแนน	จัดอยู่ในกลุ่มจีโนม	ABBB
70-75 คะแนน	จัดอยู่ในกลุ่มจีโนม	BB, BBB

การจำแนกชนิดกล้วยกินได้ในประเทศไทยใช้วิธีของ Simmonds และ Shepherd (Simmonds, 1966) ประกอบกับการนับจำนวนโครโมโซม ซึ่งจากการรวบรวมพันธุ์กล้วยทั่วประเทศได้ทั้งหมด 330 พันธุ์ เมื่อนำมาจำแนกแล้วได้ประมาณ 59 สายพันธุ์

ตารางที่ 1 การให้คะแนนลักษณะต่างๆ ของกล้วย

Table 1 Characters used in taxonomic scoring of banana cultivars.

Character	*M. acuminata* (A genome)	*M. balbisiana* (B genome)
Pseudostem colour	More or less heavily marked with brown or black blotches	Blotches slight or absent
Petiolar canal	Margin erect or spreading, with scarious wings below, not clasping pseudostem	Margin inclosed, not winged below, clasping pseudostem
Peduncle	Usually downy or hairy	Glabrous
Pedicles	Short	Long
Ovules	Two regular rows in each loculus	Four irregular rows in each loculus
Bract shoulder	Usually high (ratio < 0.28)	Usually low (ratio > 0.30)
Bract curling*	Bracts reflex and roll back after opening	Bracts lift but do not roll
Bract shape	Lanceolate or narrowly ovate, tapering sharply from the shoulder	Broadly ovate, not tapering sharply
Bract apex	Acute	Obtuse
Bract colour	Red, dull purple or yellow outside ; pink, dull purple or yellow inside	Distinctive brownish-purple outside ; bright crimson inside
Colour fading	Inside bract colour fades to yellow towards the base	Inside bract colour continuous to base
Bract scars	Prominent	Scarcely prominent
Free petal of male flower	Variably corrugate below tip	Rarely corrugated
Male flower colour	Creamy white	Variably flushed with pink
Stigma colour	Orange or rich yellow	Cream, pale yellow or pale pink

* In varieties with persistent male bracts, curling is weak or absent, regardless of genotype.

Source : Simmonds (1966)

ดังนั้นกล้วยในพวก Eumusa จึงแบ่งออกได้เป็น AA, AAA, AB, AAB, ABBB, BB และ BBB

กลุ่ม AA ได้แก่ กล้วยป่าและกล้วยปลูก เช่น กล้วยไข่ เล็บมือนาง ทองร่วง ไล สา ทองกาบดำ หอมทองสั้น

กลุ่ม BB ได้แก่ กล้วยตานี หรือพองลา หรืองู

กลุ่ม AB ได้แก่ กล้วยอ่างขาง หรือแดง หรือหก

กลุ่ม AAA ได้แก่ กล้วยนาก ครั่ง กุ้งเขียว หอมเขียว หอมทอง ดอกไม้ หอมแดง คลองจัง ไข่บอง

กลุ่ม AAB ได้แก่ กล้วยน้ำฝาด ลังกา ร้อยหวี เงิน นมสาว ไข่โบราณ ทองเดช นางนวล ขม ขมหนัก

กลุ่ม ABB ได้แก่ กล้วยเปลือกหนา นมหมี หรือพม่าแหกคุก พญา หักมุก ส้ม น้ำว้า (ขาว แดง ค่อม เขียว ดง)

กลุ่ม ABBB ได้แก่ กล้วยเทพรส หรือปลีหาย มีถิ่นกำเนิดในประเทศไทย

กลุ่ม BBB ได้แก่ กล้วยหิน กล้วยเล็บช้างกุด (เกิดจากการผสมระหว่างกล้วยเทพรสกับกล้วยตานี)

พัฒนาการและลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกล้วย (เบญจมาศ ศิลาย้อย, 2534)

ลักษณะพฤกษศาสตร์ของกล้วยประกอบด้วยลักษณะสำคัญดังนี้

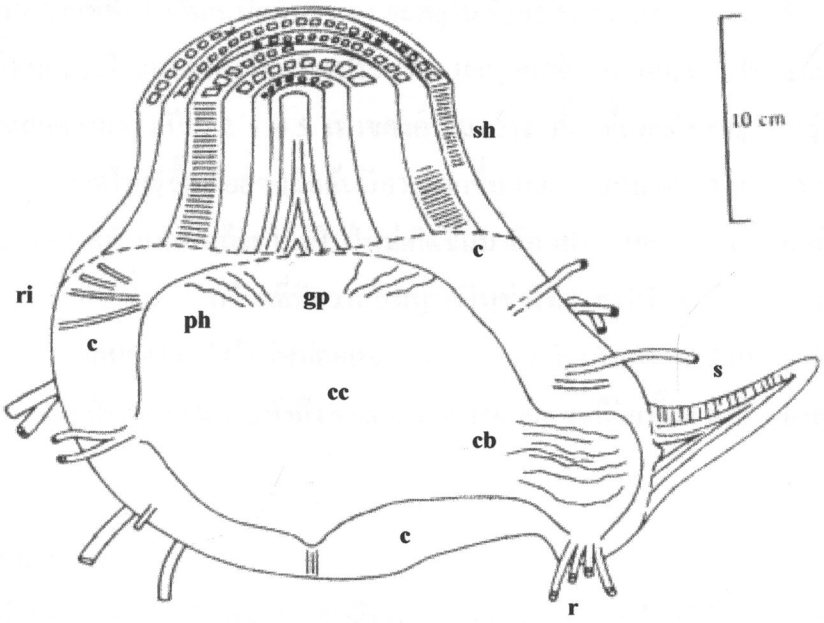
ราก

ในระยะแรกของการเจริญเติบโตหรือในระยะต้นกล้าจะพบว่ามีรากแก้วปรากฏอยู่ ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นรากฝอยเช่นเดียวกับรากกล้วยที่เกิดจากหน่อเจริญแผ่ออกไปทุกทิศทางรอบๆ เหง้า ระยะแรกรากจะมีสีขาวและอวบ ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้ม เส้นผ่านศูนย์กลางของราก ประมาณ 5 - 8 มิลลิเมตร และยาวประมาณ 20 - 39 เซนติเมตร รากจะเกิดเป็นกลุ่ม กลุ่มละประมาณ 4 ราก อยู่บริเวณผิวของลำต้นใต้ดิน ต้นกล้วยที่สมบูรณ์อาจมีจำนวนรากถึง 400 รากในหนึ่งต้น ราก จะประสานกันเป็นร่างแหอยู่ตามบริเวณผิวหน้าดินตื้น และลึกลงไปในดินประมาณ 15 เซนติเมตร แต่ในบางครั้งอาจพบว่ามีรากอยู่ในระดับลึกถึง 75 เซนติเมตร เป็นรากที่เกิดจากเหง้ากล้วยที่อยู่ลึกๆ รากประเภทนี้พบในดินที่มีการระบายน้ำ ระบายอากาศดี และดินมีความอุดมสมบูรณ์สูง

ลำต้นใต้ดิน

เป็นลำต้นที่แท้จริงของกล้วย หรือที่เรียกว่า 'เหง้ากล้วย' (rhizome) มีขนาดใหญ่ อาจมีเส้นผ่านศูนย์กลางถึง 30 เซนติเมตร บนเหง้าจะมีข้อและปล้องที่สั้นมาก ที่ผิวมีรอยแผลของใบที่เคย

อัดแน่นเป็นเส้นรอบวงโดยรอบ เนื้อเยื่อของเหง้าเป็นส่วนสะสมของพวกแป้ง จุดเจริญของเหง้าจะเป็นรูปครึ่งวงกลมแบนๆ เป็นจุดเริ่มของการเกิดใบและช่อดอกตามลำดับ ในแต่ละเหง้าอาจจะมีหลายๆ ตา และอายุที่แตกต่างกัน เนื้อเยื่อเจริญจะพัฒนาไปเป็นหน่อ ซึ่งใช้เป็นวัสดุขยายพันธุ์ของกล้วย (ภาพที่ 1) กล้วยกอหนึ่งหรือเหง้าหนึ่งจะประกอบด้วยหน่อขนาดเล็กที่ยังไม่มีใบ หน่อใบแคบ หรือหน่อแก่ หน่อทั้งสองแบบหลังนี้เป็นหน่อที่เหมาะสมสำหรับนำไปใช้เป็นวัสดุปลูก นอกจากนี้มีต้นที่ตกเครือหรืออาจมีหน่อที่เกิดจากเหง้าที่ไม่สมบูรณ์หรือติดอยู่กับผิวดิน เรียกว่า 'หน่อใบกว้าง' ซึ่งไม่เหมาะที่จะใช้เป็นวัสดุปลูกหรือขยายพันธุ์



sh-sheaths; s-sucker; gp-growing point and cambium; c-cortex; cc-central cylinder; ri-group of four root initials; r-group of four emerged roots; ph-pit, principal leaf trace and cb-central bundles.

ภาพที่ 1 ส่วนภายในของหน่อกล้วยเมื่อผ่าตามยาว

Figure 1 Longitudinal section of a corm of banana.

Source : Simmonds (1966)

ลำต้นเทียม

ลำต้นเทียม (pseudostem) คือส่วนที่ยึดตัวของหน่อ ประกอบด้วยกาบใบที่ประกบกันแน่น ในระหว่างการเจริญเติบโตกาบเหล่านี้จะค่อยๆ คลี่ออกทีละกาบ กาบแรกได้แก่ กาบใบแคบ กาบที่สองได้แก่ กาบใบกว้าง และกาบที่สามได้แก่ กาบใบแก่ ริมกาบใบที่ขนานกันมาเรื่อยๆ จะ

ค่อยๆ เรียวเข้าหากันที่ปลายจนกลายเป็นก้านที่แข็งแรงพอที่จะรับน้ำหนักของแผ่นใบอันใหญ่โตของกล้วยได้ ใบเล็กๆที่เกิดในตอนแรกจะตายไปและจะเกิดใบใหม่มาแทนเรื่อยๆ ทำให้ใบไปรวมกันอยู่ที่ยอด บริเวณปลายลำต้นเหนือดินจึงเป็นที่รวมของก้านใบ กาบใบที่อยู่รอบโคนกล้วยนั้นเป็นเนื้อเยื่อที่มีขนาดโต หนา และอวบไปด้วยน้ำเลี้ยง เนื่องจากใบใหม่เติบโตทยอยกันขึ้นมาเป็นลำต้นจนเบียดกันแน่นที่ใจกลางของลำต้น จึงเกิดการอัดกัน ทำให้ลำต้นแข็งแรง กาบใบที่เจริญยาวขึ้นมานี้จะกลายเป็นลำต้นกล้วยเทียมที่อาจสูงถึง 12 ฟุตได้

ใบ

ใบกล้วยที่พ้นลำต้นเหนือดินขึ้นมา จะอยู่ในลักษณะตั้งฉากกับลำต้น แล้วจะค่อยๆ ลู่ลง ใบมีลักษณะใหญ่ ยาวรี ขนาดของใบกว้างประมาณ 100 เซนติเมตร และยาวประมาณ 150 - 400 เซนติเมตร โดยมีความยาวเป็น 2 - 4.5 เท่าของความกว้าง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอายุ พันธุ์ และสภาพแวดล้อม ใบจะมีขนาดใหญ่ขึ้นเรื่อยๆ เมื่อต้นมีอายุมากขึ้น และจะมีขนาดเล็กลงอย่างเห็นได้ชัดเมื่อกล้วยเริ่มให้ช่อดอก หลังจากนั้นก็จะไม่มีใบใหม่เกิดขึ้นมาอีก เส้นใบของใบกล้วยจะเรียวขนานกันเกือบเป็นมุมฉากกับก้านใบ กล้วยที่มีความสมบูรณ์ในช่วงที่กำลังให้ช่อดอกและผลจะมีใบประมาณ 10 - 15 ใบ โดยปกติจะเกิดใบใหม่ออกมาทุกๆ 7 - 10 วันเป็นการทดแทนใบเก่าที่แก่ตายไป รวมจำนวนใบตั้งแต่เป็นหน่อจนกระทั่งถึงช่วงก่อนเกิดช่อดอก จะมีใบทั้งหมดประมาณ 35 - 50 ใบในหนึ่งต้น

ช่อดอก

เมื่อหน่อของกล้วยมีอายุ 7 - 9 เดือน หรือหลังจากปลูกกล้วยด้วยหน่อประมาณ 6 - 8 เดือน กล้วยจะเกิดช่อดอก ตาดอกที่อยู่กลางเหง้าจะเจริญเติบโตทะลุเหง้าผ่านกลางลำต้นเหนือดินและโผล่ออกมาทางยอด ใช้เวลาทั้งสิ้นประมาณ 1 เดือน ช่อดอกประกอบด้วยช่อดอกย่อยอยู่รวมกันบนก้านช่อดอกที่อ้วนและแข็งแรง บนช่อดอกย่อยจะมีดอกเกิดเป็นกลุ่ม กลุ่มละ 2 แถว แต่ละกลุ่มจะมีกาบดอกสีแดงรูปไข่รองรับอยู่ ทั้งกลุ่มดอกและกาบดอกจะเรียงแบบเกลียว แต่ละข้อของก้านช่อดอกจะมีดอกจำนวน 8 - 15 ดอก ดอกเดี่ยวไม่มีกาบดอกหุ้มอยู่ ข้อแรกจนถึงข้อที่ 5 - 15 ของช่อดอกจะเป็นดอกตัวเมีย ส่วนปลายของช่อดอกจะเป็นดอกตัวผู้และส่วนกลางช่อดอกเป็นดอกสมบูรณ์เพศ

หลังจากที่มีช่อดอกโผล่ออกมาจากส่วนยอดของกล้วย ตาที่อยู่บริเวณโคนกาบปลีซึ่งเป็นส่วนที่ออกผลนั้นจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ช่วงก้านเครือระหว่างหวีจะยืดห่างออกจากกัน กาบปลีจะเปิดและม้วนออกคราวละหนึ่งกาบหรือมากกว่า เผยให้เห็นดอกตัวเมียที่ติดอยู่กับปลายผลเล็กๆ ซึ่งจะเจริญเป็นหวีกล้วยต่อไป

ต่อมากาบปลีที่คลุมดอกตัวเมียอยู่ก็จะร่วงหล่น กาบปลีส่วนที่อยู่ถัดลงมาก็จะเปิดออก ดอกที่อยู่บริเวณส่วนนี้มักจะทำหน้าที่ไม่สมบูรณ์ไม่ว่าจะเป็นดอกตัวเมียหรือดอกตัวผู้ก็ตาม และดอกที่ปลายเครือซึ่งจะบานในเวลาถัดมาจะเป็นดอกตัวผู้ทั้งหมด พอถึงระยะนี้ดอกตัวเมียส่วนมากจะเริ่มเหี่ยว ซึ่งเป็นการป้องกันการผสมตัวเองของพ่อแม่ในต้นเดียวกัน

ดอก

ลักษณะของดอกกล้วยแต่ละดอกจะไม่ได้สัดส่วนกัน กลีบเลี้ยงและกลีบดอกจะไม่แยกออกจากกัน ทำให้มองเห็นกลีบสีเหลือง สีครีม หรือขาวเป็น 2 ชั้น คือชั้นกลีบรวม ประกอบด้วยกลีบใหญ่ 3 กลีบ และกลีบเล็ก 2 กลีบ เชื่อมติดกันเป็นอันเดียว และชั้นกลีบอิสระ ดอกตัวเมียจะยาวประมาณ 10 เซนติเมตร มีรังไข่ที่พัฒนาอย่างดี และยาวกว่าชั้นกลีบ ภายในรังไข่แบ่งออกเป็น 3 ช่อง มีไข่เกิดเป็นจำนวนมากโดยเรียงกันเป็น 2 - 4 แถว ก้านเกสรตัวเมียอวบและส่วนยอดของเกสรตัวเมียมี 3 พู ส่วนเกสรตัวผู้มีลักษณะฝ่อมีจำนวน 5 อัน เมื่อเจริญเป็นผล รังไข่จะยังคงอยู่ ส่วนชั้นกลีบเกสรตัวผู้ที่ฝ่อและก้านเกสรตัวเมียจะหลุดร่วงไป มองเห็นเป็นเพียงรอยแผลที่ปลายผลแก่ ดอกตัวผู้จะยาวประมาณ 6 เซนติเมตร มีเกสรตัวผู้ 5 อันจัดอยู่เป็น 2 ชั้น อับละอองเกสรตัวผู้มีลักษณะรูปร่างยาวขนาดใหญ่ และถ้าเป็นกล้วยปลูกมักไม่มีละอองเกสรบรรจุอยู่หรือมีก็น้อยมาก รังไข่เล็กและฝ่อมีความยาวเพียง ¼ ของความยาวของดอก ก้านและยอดเกสรตัวผู้จะเรียวเล็ก และดอกก็จะร่วงอยู่บริเวณฐานของรังไข่เป็นส่วนใหญ่

ผล

ผลของกล้วยเป็นแบบเบอร์รี่ ใช้เวลาหลังจากเกิดช่อดอกจนถึงเก็บเกี่ยวได้ประมาณ 90 วัน ผลของกล้วยป่าจะต้องได้รับการผสมเกสรจึงจะติดเป็นผลได้ ผลแก่มีเปลือกเมล็ดแข็งสีดำอยู่มากมาย ส่วนในกล้วยปลูกจะติดผลโดยไม่จำเป็นต้องได้รับการผสมเกสร เนื้อของกล้วยที่รับประทานได้เกิดจากเนื้อเยื่อชั้นนอกของช่องว่างภายในรังไข่ กล้วยที่ปลูกส่วนใหญ่จะมีเกสรตัวเมียเป็นหมัน เมล็ดจะไม่มีการพัฒนา เพราะจะเหี่ยวและเป็นเพียงจุดเล็กๆ สีน้ำตาล

ผลกล้วยทั้งหมดบนก้านดอกรวมเรียกว่า เครือ (bunch) ส่วนผลกล้วยแต่ละกลุ่มแต่ละข้อเรียกว่า หวี (hand) ส่วนแต่ละผลเรียกว่า ผลกล้วย (finger) คุณภาพกล้วยหมายถึงจำนวนของหวีกล้วยในเครือหนึ่งๆ กล้วยแต่ละพันธุ์จะมีความแตกต่างของผลในเรื่องของรูปร่าง ขนาด สีเปลือก สีของเนื้อ รสชาติ และความละเอียดของเนื้อไม่เหมือนกัน กล้วยรับประทานสดจะมีปริมาณน้ำตาลสูง ส่วนกล้วยที่ใช้ปรุงอาหารจะมีปริมาณของแป้งอยู่มาก กล้วยหนึ่งเครืออาจจะมีจำนวนหวีถึง 5 - 15 หวี และแต่ละหวีจะมีจำนวนผลตั้งแต่ 5 - 20 ผล ขนาดของผลเมื่อโตเฉลี่ยยาวประมาณ

5 - 15 เซนติเมตร กว้าง 2.5 - 5 เซนติเมตร ผลสุกอาจมีสีเปลือกเป็นสีเขียว เหลือง หรือออกแดง แล้วแต่ชนิดหรือพันธุ์ของกล้วยนั้นๆ

เมล็ด

เมล็ดของกล้วยมีรูปร่างเกือบกลม หรือเป็นรูปเหลี่ยม เปลือกหุ้มเมล็ดจะแข็งมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5 มิลลิเมตร ภายในเมล็ดมีอาหารเลี้ยงต้นอ่อนอยู่ ส่วนคัพภะมีขนาดเล็กมาก

กล้วยหิน

ความเป็นมาของกล้วยหิน (นพรัตน์ บำรุงรักษ์, 2536)

กล้วยหินเป็นกล้วยชนิดหนึ่งที่มีในเขตท้องที่อำเภอบันนังสตา จังหวัดยะลา และเป็นพืชเก่าแก่คู่สองฝั่งแม่น้ำปัตตานีมานาน แต่ไม่ทราบแน่ชัดว่านานเท่าไหร่ ในประเทศไทยพบกล้วยหินครั้งแรกที่เขตตำบลบาเจาะ จังหวัดยะลา บริเวณสองฝั่งลำธารสายใหญ่ (แม่น้ำปัตตานี) ต่อมาชาวบ้านบริเวณใกล้เคียงนำหน่อไปปลูกตามริมฝั่งลำธารดังกล่าวในเขตตำบลอื่นๆ ที่แม่น้ำปัตตานีไหลผ่าน ปัจจุบันกล้วยหินได้ปลูกกระจายไปในตำบลต่างๆ หลายตำบล และมีหนาแน่นมากที่ตำบลบาเจาะและอำเภอบันนังสตา ส่วนใหญ่จะปลูกกันในที่ลุ่มสองฝั่งลำธารใหญ่ๆ ที่ลุ่มอื่นๆ และปลูกเป็นพืชร่มเงาในสวนยางพาราและสวนไม้ผลอื่นๆ จนปัจจุบันมีเนื้อที่ปลูก 4784 ไร่

ลักษณะพิเศษของกล้วยหิน

ความเด่นของกล้วยหิน เมื่อเปรียบเทียบกับกล้วยชนิดอื่นมีหลายประการ เช่น เป็นกล้วยที่มีรสชาติดี ไม่ฝาด เนื้อไม่ยุ่ย เนื้อในสีขาวอมเหลือง มีลักษณะแข็งเล็กน้อยถึงแม้จะสุกก็เก็บไว้ได้นานกว่ากล้วยชนิดอื่นเมื่ออยู่ในสภาพเดียวกัน ผลมีลักษณะเป็นเหลี่ยมแข็ง

กล้วยหินเป็นพืชที่ปลูกง่าย ไม่ต้องดูแลเอาใจใส่มากนัก อายุยืน ปลูกครั้งเดียวเก็บเกี่ยวได้ตลอดไป เนื่องจากมีหน่อทดแทนขึ้นมาเรื่อยๆ อายุยืนกว่ากล้วยน้ำว้า กล้วยไข่ และกล้วยหอม กล้วยหินสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้เกือบทุกส่วน นับตั้งแต่รากใช้ประกอบยาแผนโบราณ ลำต้นใช้ประกอบอาหารรับประทานได้ หรือใช้เลี้ยงสัตว์ เช่น เป็นอาหารสุกรได้ ส่วนใบกล้วยใช้เป็นใบตองห่อขนม ห่ออาหารได้ดี ส่วนปลีใช้เป็นผักจิ้มน้ำพริกมีรสชาติดีมาก ผลกล้วยเมื่อแก่จัดและตัดมาแล้วเก็บไว้ได้นานกว่ากล้วยอื่นๆ ประมาณ 7 วันจึงจะงอม และผลกล้วยหินใช้ประกอบเป็นอาหารคาวหวานได้หลายชนิด เช่น ผลอ่อนใช้ประกอบอาหารพวกแกง ผลแก่ใช้เชื่อม ทอด ฉาบ ตาก หรือต้ม ทำให้อาชีพการแปรรูปกล้วยหินประสบความสำเร็จแก่ผู้ประกอบการหลายราย (พานิชย์ ยศปัญญา, 2541)

กล้วยหินมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Musa balbisiana* 'Kluai Hin' จัดอยู่ในกลุ่ม BBB กล้วยหินมีลำต้นสูงประมาณ 3.5 - 5 เมตร ส่วนที่เป็นลำหรือลำต้น (เทียม) เมื่อเจริญเติบโตเต็มที่วัดรอบโคนต้นประมาณ 70 เซนติเมตร ขนาดของใบเมื่อโตเต็มที่ กว้าง 40 - 50 เซนติเมตร ยาว 145 - 150 เซนติเมตร ใบจะมีขนาดใหญ่ขึ้นเรื่อยๆ เมื่อต้นมีอายุมากขึ้น กล้วยหินที่มีความสมบูรณ์ ขณะสร้างช่อดอกจะมีใบประมาณ 10 - 15 ใบ และจะเกิดใบใหม่ทุกๆ 7 - 10 วัน เพื่อทดแทนใบเก่าที่ตายไป

เมื่อกล้วยหินมีอายุประมาณ 8 เดือน จะสร้างเครือ และในเครือหนึ่งมีกล้วยประมาณ 10 หวี เฉลี่ย 20 ผลต่อหวี ขนาดของผลเมื่อโตเต็มที่มีความยาวเฉลี่ย 6 - 8 เซนติเมตร กว้าง 2.5 - 5 เซนติเมตร (ภาพที่ 2) เครือที่อยู่ในที่ร่มมักพบว่าผลมีเปลือกสีดำเนื่องจากเชื้อรา โดยทั่วไปเนื้อกล้วยหินมีลักษณะแตกต่างกันไปตามชนิดของดินที่ปลูก เช่น ถ้าปลูกในดินแร่ธาตุมาก เนื้อในจะมีสีเหลือง แต่ถ้าปลูกในดินทรายแร่ธาตุน้อย เนื้อจะมีสีค่อนข้างดำ ลอกเปลือกยาก คือ เนื้อกล้วยจะติดเปลือก ส่วนสีของผลนั้นจะมีสีดำเมื่อแก่จัด แต่จะมีสีเหลืองเมื่อสุก ส่วนสาเหตุที่เนื้อติดเปลือกลอกยาก รวมทั้งการมีจุดสีดำที่เนื้อกล้วยนี้อาจมีสาเหตุเนื่องจากอากาศร้อน และการเก็บหวีกล้วยแยกกัน แต่ถ้าบางหวีกล้วยซ้อนกันเป็นกองจะไม่ค่อยพบกับปัญหาดังกล่าว ทำให้เชื่อว่าทั้งอุณหภูมิและความชื้นอาจมีผลต่อปัญหาที่เกิดขึ้น

ภาพที่ 2 ผลกล้วยหิน (*Musa balbisiana* 'Kluai Hin')

Figure 2 *Musa balbisiana* 'Kluai Hin' fruits.

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมสำหรับกล้วยหิน

ดังได้กล่าวมาแล้วว่า ถิ่นที่พบกล้วยหินมากอยู่ที่จังหวัดยะลา โดยเฉพาะอำเภอบันนังสตา พื้นที่นี้มีลักษณะภูมิประเทศเป็นภูเขาล้อมรอบ มีฝนตกตลอดปี อากาศชื้น และค่อนข้างเย็นกว่าบริเวณพื้นที่อื่นในภาคใต้ด้วยกัน ในสภาพที่เป็นดินร่วนปนทรายมีแร่ธาตุสมบูรณ์ กล้วยหินจะเจริญดีมีผลงาม บริเวณที่ปลูกกล้วยหินจึงมักเป็นที่ราบหรือลาดเทบริเวณเชิงเขาซึ่งมีการระบายน้ำดี ถ้าสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไป กล้วยหินจะมีคุณภาพลดลง เช่น รสชาติเปลี่ยนไป ขนาดผล ขนาดเครือลดลง ปัจจัยสำคัญที่ทำให้กล้วยหินเจริญเติบโตดีอาจเป็นเพราะมีแร่ธาตุที่เหมาะสมซึ่งไหลมากับน้ำในแม่น้ำปัตตานี และท่วมสองฟากฝั่งเป็นครั้งคราว ดังนั้น ในการเลือกพื้นที่ปลูกกล้วยหิน ควรพิจารณาทั้งความอุดมสมบูรณ์ของดิน ความชื้นของดิน มีการระบายน้ำดี ตลอดจนอุณหภูมิของอากาศที่อาจมีส่วนเกี่ยวข้องอีกด้วย

การปลูกและการเจริญเติบโตของกล้วยหิน

กล้วยหินนิยมขยายพันธุ์ด้วยหน่อ ที่เรียกว่า หน่อใบแคบ (sword sucker) เป็นหน่อที่มีใบบ้าง แต่เป็นใบเรียวเล็ก 2 - 3 ใบ มีความสูงประมาณ 50 เซนติเมตร มีเหง้าติดอยู่ กล้วยหินที่ปลูกในลักษณะนี้จะให้ผลพร้อมๆกัน สะดวกในการตัดปลีและตัดเครือ หน่อที่อ้วนล่ำมักเจริญเติบโตและออกผลเร็วกว่าหน่อที่ยาวสูงชะลูด ทั้งขนาดของเครือและผลก็โตกว่า ใบกล้วยหินมีขนาดโตกว่าใบกล้วยทั่วไป ซึ่งรูปร่างและลักษณะของใบขึ้นอยู่กับอายุของกล้วยด้วย ขนาดของใบจะเพิ่มขึ้นขณะที่กล้วยเจริญเติบโต และขนาดของใบจะใหญ่ที่สุดเมื่อกล้วยจะสร้างช่อดอก ต่อจากนั้นจะมีใบสุดท้ายที่มีขนาดเล็กเกิดขึ้นเพื่อปกป้องช่อดอกจากฝนและแสงแดด การเจริญของช่อดอกซึ่งพัฒนามาจากฐานโคนต้น จะแทงทะลุยอดกล้วย ใช้เวลาประมาณ 1 เดือน น้ำหนักของผลกล้วยจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆในระยะสามเดือนแรก และพบว่าผลกล้วยที่อยู่โคนเครือมักมีขนาดและน้ำหนักมากกว่าผลกล้วยที่อยู่ปลายเครือ โดยทั่วไปผลกล้วยหินจะถูกนำมาบ่มให้สุกโดยไม่ปล่อยให้สุกบนต้น

ในการปลูกกล้วยหินนั้น เมื่อเตรียมพื้นที่ปลูกแล้ว มีการวางระยะเพื่อขุดหลุมปลูก ควรใช้ระยะปลูก 6 x 7 เมตร เนื่องจากกล้วยหินมีกอใหญ่ ขนาดลำใหญ่ และสูงกว่ากล้วยทั่วไป จึงต้องปลูกระยะห่าง กล้วยหินจะแตกหน่อง่ายในดินดี และปลูกเพียง 7 - 8 เดือน ก็จะแทงหน่อ 5 - 6 หน่อ ชาวสวนบางคนพยายามย้ายหลุมปลูก เช่น ปลูก 3 - 5 ปี จึงรื้อหลุมครั้งหนึ่ง นิยมปลูกแนวสี่เหลี่ยมจัตุรัส หรือปลูกแบบขั้นบันไดบนพื้นที่ลาดชันก่อนปลูกมีการขุดหลุมปลูกหลายแบบ ชาวสวนส่วนมากขุดกว้างลึก 50 - 100 เซนติเมตร ขุดหลุมตากไว้ 10 - 15 วัน ใส่ปุ๋ยคอกรองก้นหลุม

นิยมปลูกกล้วยหินตอนต้นฤดูฝน เพราะสะดวกไม่ต้องรดน้ำมากและกล้วยเจริญเติบโตเร็ว เมื่อปลูกใหม่ๆ ควรรดน้ำให้มาก แต่ไม่ขังแฉะ ถ้าขาดน้ำผลจะเล็กคุณภาพไม่ดี ฉะนั้น การปฏิบัติรักษาที่สำคัญ คือ การรดน้ำกล้วยเมื่อแล้ง การปราบวัชพืช การตัดแต่งหน่อและการให้ปุ๋ยใน

สิ่งแวดล้อมที่เหมาะสม และยังพบว่าการคลุมดินมีผลต่อกล้วยหินมาก ซึ่งนิยมใช้หญ้าหรือกาบใบกล้วยที่ตายแล้วมาเป็นวัสดุคลุมดิน

โรคและแมลงศัตรูของกล้วยหิน

โรคที่พบในกล้วยหินได้แก่ โรคตายพราย โรคเหี่ยว และโรคใบจุด สำหรับแมลงศัตรูกล้วยหินที่สำคัญ คือ ด้วงงวงเจาะลำต้น ซึ่งพบได้ทั่วไปในสวนกล้วยหิน โดยสามารถสังเกตร่องรอยการเข้าทำลายได้ง่ายที่บริเวณลำต้นและกาบกล้วย ลักษณะการทำลายคือ ตัวแก่ของด้วงงวงชนิดนี้จะวางไข่ไว้บริเวณกาบกล้วย ส่วนของลำต้นที่เหนือดินขึ้นไปจนถึงประมาณกลางต้นมองเห็นด้านนอกลำต้นเป็นรูพรุนทั่วไป เป็นสาเหตุให้กล้วยตาย ส่วนมากจะพบกับกล้วยหินที่โตแล้วหรือต้นที่ใกล้จะออกปลี หรือกำลังตกเครือ ซึ่งมักจะทำให้เครือหักพับกลางต้น หรือเหี่ยวเฉายืนตาย ในการป้องกันกำจัด อาจกระทำได้โดยการเลือกพื้นที่ปลูกกล้วยหินใหม่ที่ปราศจากโรคแมลงกวนบริเวณไม่รก และไม่เคยมีด้วงระบาดมาก่อน หรืออาจขยายพันธุ์จากหน่อที่สมบูรณ์ ปราศจากแมลง รวมทั้งการพยายามรักษาบริเวณโคนต้นให้สะอาดอยู่เสมอ

การแปรรูปกล้วยหิน

การแปรรูปกล้วยหินสามารถทำได้หลายวิธีดังนี้

1. การทำกล้วยหินต้ม เป็นวิธีที่ดีที่สุดในการรับประทานกล้วยหินให้มีรสชาติดี ซึ่งมีกรรมวิธีคือ นำกล้วยที่บ่มจนสุกแล้วมาตัดแบ่งหวีให้เหลือประมาณ 6 - 7 ลูก แล้วนำไปใส่ในน้ำเดือดโดยไม่ต้องปอกเปลือก ต้มประมาณ 1 ชั่วโมง ก็จะได้กล้วยหินต้มที่สามารถปอกเปลือกรับประทานได้ทันที เมื่อกล้วยสุกเปลือกจะมีสีน้ำตาลคล้ำใส่เกลือเล็กน้อยขณะต้ม กล้วยหินต้มมีชื่อเสียงที่บ้านเนียง จังหวัดยะลา

2. การทำกล้วยแขกหรือกล้วยทอด เป็นที่นิยมมากเช่นกันในบริเวณจังหวัดภาคใต้ตอนล่าง มีวิธีการคือ ฝานกล้วยหินตามยาวแล้วนำไปชุบแป้งทอดในน้ำมันเดือด นับว่าเป็นวิธีรับ-ประทานกล้วยหินที่อร่อยอีกวิธีหนึ่ง

3. กล้วยหินเชื่อม มีวิธีการคือ ต้มน้ำให้เดือดใส่น้ำตาลลงไปคนให้ทั่ว แล้วปอกกล้วยหินใส่ลงไป

4. กล้วยหินบวดชี วิธีการเหมือนการทำกล้วยบวดชีธรรมดา คือผ่าเป็นซีกหรือตามขวางต้มกับน้ำกะทิใส่เกลือ น้ำตาลให้มีรสพอเหมาะ

5. กล้วยหินฉาบ สามารถทำเป็นกล้วยฉาบได้หลายรส เช่น กล้วยหินฉาบรสเค็ม กล้วยหินฉาบรสหวาน และกล้วยหินฉาบอบน้ำผึ้ง เป็นต้น ซึ่งปัจจุบันเป็นสินค้าที่ทำรายได้เป็นอย่างดี

การขยายพันธุ์กล้วย (เบญจมาศ ศิลาย้อย, 2534)

กล้วยเป็นพืชล้มลุกข้ามปี (herbaceous perennial) ที่มีอายุหลายฤดู มีลำต้นอยู่ใต้ดินที่เรียกว่า หัว (corm) หรือเหง้า ปกติการขยายพันธุ์กล้วยหินสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 วิธีใหญ่ๆ

1. การขยายพันธุ์โดยการใช้หน่อ

เป็นวิธีที่นิยมขยายพันธุ์กันโดยทั่วไป เพราะปกติตามสวนกล้วยมีหน่อกล้วยมากอยู่แล้ว เพียงแต่ขุดหน่อที่แตกออกมาจากต้นแม่มาปลูกใหม่ก็ใช้ได้ วิธีที่ขุดหน่อหรือแยกหน่อออกจากต้นแม่ขึ้นมานั้นต้องตัดหน่ออ่อนให้ชิดกับเหง้าของต้นแม่ และอย่าให้ต้นแม่กระทบกระเทือน

ในกรณีที่ต้องการเพิ่มจำนวนหน่อให้มากขึ้น หรือต้องการทำแปลงขยายพันธุ์กล้วยโดยเฉพาะ (seed bed) ระยะที่ใช้คือ 1 x 2 หรือ 2 x 2 หรือ 2 x 3 หรือ 3 x 3 เมตร พยายามป้องกันช่อดอกที่จะออกโดยการตัดลำต้นเทียมเหนือดินประมาณ 50 เซนติเมตร เอากาบใบที่อยู่ด้านนอกออกเพื่อให้ตาที่อยู่ภายในได้รับแสง ให้ปุ๋ยไนโตรเจนต้นละ 30 - 60 กรัม ทุกสัปดาห์ เพื่อเร่งให้การแตกหน่อเร็วขึ้น เมื่อหน่อแตกออกมามีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 15 เซนติเมตร โดยวัดที่ระดับเหนือดิน 15 เซนติเมตร สามารถตัดหน่อนั้นออกไปปลูกได้

2. การขยายพันธุ์โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

เนื่องจากกล้วยหินเป็นกล้วยที่มีโครโมโซมสามชุดจึงไม่มีเมล็ดสำหรับใช้ในการขยายพันธุ์ ดังนั้นการขยายพันธุ์ด้วยการชำหน่อจึงเป็นวิธีที่ใช้ในการขยายพันธุ์กล้วยหิน แต่การขยายพันธุ์โดยการใช้หน่อที่แตกจากต้นแม่นั้น พบว่ามีความแตกต่างกันในด้านความแข็งแรงของแต่ละหน่อ การเลี้ยงหน่อมากเกินไปทำให้ผลผลิตและคุณภาพต้นแม่ลดลง และหน่อที่ได้ให้ผลผลิตไม่สม่ำเสมอ ซึ่งส่งผลให้การผลิตเป็นไปอย่างไม่ต่อเนื่อง และมีจำนวนไม่พอที่จะผลิตส่งเป็นสินค้าออก การชำหน่อใช้เวลานานและเสี่ยงต่อการเข้าทำลายของโรค การขยายพันธุ์โดยวิธีแยกหน่อสามารถทำได้ประมาณ 100 ต้นในเวลา 1 ปี ซึ่งไม่เพียงพอกับความต้องการปลูก การขยายพันธุ์กล้วยด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อช่วยให้การขยายพันธุ์กล้วยได้จำนวนมากในเวลาสั้นได้ต้นปลอดจากโรค มีความสม่ำเสมอทั้งอายุและความแข็งแรงอีกด้วย (สมปอง เตชะโต, 2538) มีการทดลองเพื่อเปรียบเทียบอัตราการเพิ่มจำนวนระหว่างการใช้วิธีแบบดั้งเดิม กับวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เช่น Smith และคณะ (2001) และ Vuylsteke และ Ortiz (1996) พบว่า กล้วยที่ขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีอัตราการเพิ่มจำนวนสูงกว่าการใช้วิธีแบบดั้งเดิมอย่างมีนัยสำคัญ การขยายพันธุ์ด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถใช้ส่วนปลายยอด ช่อดอกอ่อน ปลายของช่อดอกอ่อนเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นได้ แต่ส่วนที่เหมาะสมที่สุดคือส่วนปลายยอด ทั้งนี้เพราะสามารถหนีโรคไม่ว่าจะเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส หรือโรคที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย โดยที่ อรดี สหวัชรินทร์ (2526) บุญยืน กิจวิจารณ์

และ รัชนี ฉวีราช (2533) และ Kanchanapoom และ Chanadang (2000) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนปลายยอดกล้วยหอมทอง(AAA group, 'Gros Michel') ส่วนกัลยาณี อรรถฉัตร และคณะ (2533) และสุภาภรณ์ รุ่งเรืองขจรเลิศ (2537) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยหอมพันธุ์ 'Grande Naine' โดยใช้ส่วนปลายยอด นอกจากนี้ สุภาพร แก้วสมพงษ์ (2532) (อ้างโดย กัลยาณี อรรถฉัตร และคณะ, 2533) และ Silayoi (2001) เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไข่โดยใช้ส่วนปลายยอดเช่นกัน และยังมีผู้ทำการวิจัยที่ใช้ส่วนเนื้อเยื่อปลายยอดเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในกล้วยพันธุ์อื่นๆ อีกด้วยเริ่มจาก Swamy และคณะ(1983) (อ้างโดย กัลยาณี อรรถฉัตร และคณะ, 2533) Cronaver และ Krikorian (1984) Wong (1986) Bhagyalakshmi และ Singh (1995) Arinaitwe และคณะ (2000) Chinsuk และ Silayoi (2001) และ Juli และ Khalid (2001) และพบว่ามีงานวิจัยซึ่งใช้ชิ้นส่วนอื่นเป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นเช่น ชิ้นส่วนปลี โดย Swamy และ Sahijam (1989) และส่วนช่อดอกโดย Silayoi (2001)

สำหรับอาหารที่ใช้เลี้ยงแตกต่างกันออกไปทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพันธุ์ สูตรอาหารที่ใช้ส่วนใหญ่เป็นอาหารสูตรพื้นฐานของ MS (Murashige & Skoog, 1962) ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดและความเข้มข้นต่างๆ กันออกไป โดยสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มักใช้ในการเพิ่มจำนวนต้นกล้วยมักเป็นกลุ่มไซโทไคนิน โดยสารที่นิยมใช้ได้แก่ BA (N^6-Benzyladenine) เช่น Cronaver และ Krikorian (1984) และ Silayoi (2001) รายงานว่าความเข้มข้นของ BA ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนต้นมากที่สุดเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วน Chinsuk และ Silayoi (2001) รายงานว่า BA 7 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้อัตราการเพิ่มจำนวนต้นสูงสุด นอกจากนี้ยังมีใช้ BA ร่วมกับน้ำมะพร้าว เช่น งานวิจัยของอรดี สหวัชรินทร์ (2526) Kanchanapoom และ Chanadang (2000) กัลยาณี อรรถฉัตร และคณะ (2533) สุภาพร แก้วสมพงษ์ (2532) (อ้างโดย กัลยาณี อรรถฉัตร และคณะ, 2533) และ Swamy และคณะ (1983) (อ้างโดย กัลยาณี อรรถฉัตร และคณะ, 2533) เป็นต้น ส่วนสารอื่นที่อยู่ในกลุ่มไซโทไคนินที่มีการนำมาใช้ในการเพิ่มจำนวนต้นกล้วยได้แก่ TDZ (Thidiazuron) ซึ่งรายงานโดย Kanchanapoom และ Chanadang (2000) และ Arinaitwe และคณะ (2000)

การเก็บรักษาพันธุ์พืช

พันธุ์พืชที่มีอยู่ตามธรรมชาติปัจจุบันนับว่าจะสูญหายไป เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมอันรุนแรง เช่น พายุ ความแห้งแล้ง น้ำท่วม เป็นต้น การเก็บรักษาในสวนหรือไร่นาใช้พื้นที่มาก ต้นพืชโตเร็วต้องมีการรื้อปลูกกันบ่อยครั้ง นอกจากนี้ยังเสี่ยงต่อการกลายพันธุ์อันเนื่องมาจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมดังกล่าวแล้ว ดังนั้นการตัดปลายยอด หรือข้อของพืชที่ต้องการเก็บรักษามาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ ซึ่งลดความเข้มข้นของธาตุอาหารลงเพื่อจำกัดการเจริญเติบโต หรือเก็บรักษาในที่เย็น จะช่วยแก้ปัญหานี้ได้ จากการใช้วิธีการดังกล่าวพบว่า พื้นที่

1 ตารางเมตรสามารถเก็บรักษาพืชได้ถึง 2500 ต้น ซึ่งมากกว่าการเก็บในสวนหรือไร่นา และไม่ต้องเสียเวลาดูแลด้วย ช่วยลดค่าใช้จ่ายได้จำนวนมาก (สมปอง เตชะโต, 2538)

ประโยชน์ของการเก็บรักษาพันธุ์พืชด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (บุญยืน กิจวิจารณ์, 2540)

1. ใช้พื้นที่ในการเก็บรักษาน้อย
2. พืชที่เก็บรักษาปลอดภัยจากแมลง เชื้อโรคและไวรัส
3. ไม่ต้องทำการย้ายเลี้ยง เนื่องจากพืชถูกจำกัดการเจริญเติบโตในสภาวะพิเศษ
4. สามารถทำการเพิ่มจำนวนได้เมื่อต้องการ
5. สะดวกในการขนส่งหรือแลกเปลี่ยนชิ้นส่วน

การนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในอนุรักษ์พันธุ์พืชทำได้ 2 วิธี ได้แก่

1. การเก็บรักษาพันธุ์พืชโดยการแช่เยือกแข็ง (cryopreservation) เป็นการเก็บรักษาพันธุ์พืชที่อุณหภูมิต่ำมาก (-196 องศาเซลเซียส) ในไนโตรเจนเหลว เพื่อหยุดกิจกรรมการแบ่งเซลล์และเมทาโบลิก ซึ่งมีการใช้สารลดความเสียหายของเซลล์จากการแช่เยือกแข็ง (cryoprotechtant) เช่น Dimethyl sulphoxide (DMSO)

2. การเก็บรักษาพันธุ์พืชแบบชะลอการเจริญเติบโต (slow growth) ทำได้โดยการจำกัดคาร์โบไฮเดรตให้ต่ำกว่าระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต การลดอุณหภูมิหรือความเข้มแสง หรือการใช้สารยับยั้งการเจริญเติบโตโดยเติมในอาหารที่ใช้เลี้ยง เช่น กรดแอบซิสซิค (abscisic acid) เป็นต้น

การรักษาพันธุ์กล้วยแบบชะลอการเจริญเติบโตสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การเก็บส่วนปลายยอดบนอาหารแข็งที่ลดสารอาหารลงครึ่งหนึ่ง เช่นสุจิตรา โพธิ์ปาน (2541) เก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมกล้วย 'Abaca' (*Musa textiles* Nee.) นานประมาณ 1 ปี หรือการเก็บรักษาส่วนปลายยอดบนอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว เช่น Van den houwe และคณะ (1995) เก็บรักษากล้วยพันธุ์ต่างๆ 401 พันธุ์ด้วยอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลวสูตร MS ที่อุณหภูมิ 16 ± 1 และ 22 ± 3 องศาเซลเซียส และการเก็บส่วนปลายยอดบนสำลีปลอดเชื้อที่มีแต่สารละลายน้ำตาล เช่น Ko และคณะ (1991) ทำการเก็บรักษากล้วยพันธุ์ 'Cavendish' (*Musa acuminata* Colla cv. Cavendish, AAA) โดยวางเนื้อเยื่อบนสำลีที่มีสารละลายน้ำตาลชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำตาลไรโบส ฟรุกโตส กลูโคส ซูโครส และแลคโตส ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 17 องศาเซลเซียส สามารถเก็บได้นานประมาณ 2 ปี

นอกจากนี้ยังมีการเก็บรักษาพันธุ์พืชแบบชะลอการเจริญเติบโตกับพืชชนิดอื่นๆ อีก เช่น กาแฟ (*Coffea* spp.) โดย Bertrand-Desbrunais และคณะ (1991) ลิลลี่ (*Lilium* L.) โดย Bonnier และ

Tuyl (1997) มันฝรั่ง (*Solanum tuberosum*) Chokecherry (*Prunus virginiana*) และ Saskatoon berry (*Amelancher alnifolia* Nutt.) โดย Pruski และคณะ (2000)

เมล็ดเทียม

ในระบบการผลิตพืชทางการค้าโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้น ต้องมีการขนส่งต้นพืชและมักใช้พื้นที่ในการขนส่งมาก ส่งผลให้มีต้นทุนในการผลิตสูง จึงมีเทคโนโลยีการผลิตเมล็ดเทียมเพื่อแก้ปัญหานี้เนื่องจากเมล็ดเทียมมีขนาดเล็ก ใช้พื้นที่ในการขนส่งไม่มาก ทำให้สามารถลดต้นทุนในการผลิตได้

การผลิตเมล็ดเทียมเป็นการนำชิ้นส่วนต่างๆ ของพืชที่สามารถขยายพันธุ์ได้เช่น ตายอด ตาข้าง หรือโซมาติกเอ็มบริโอมาหุ้มด้วยวัสดุเจลซึ่งทำหน้าที่แทนเอนโดสเปิร์มของเมล็ดพืช เพื่อให้สามารถพัฒนาเป็นต้นได้ วัสดุเจลสามารถร่วมกับสารอาหาร ปุ๋ยอินทรีย์ ยาฆ่าแมลง แบคทีเรียตรึงไนโตรเจน ยาปฏิชีวนะ หรือสารจำเป็นอื่นๆ การผลิตเมล็ดเทียมสามารถลดจำนวนการย้ายเลี้ยงและลดขั้นตอนการปรับสภาพต้นพืชในสภาพปลอดเชื้อที่ยุ่งยาก เนื่องจากสามารถนำเมล็ดเทียมปลูกลงแปลงได้โดยตรง โดยไม่ต้องมีการชักนำราก พืชที่ได้จากการผลิตเมล็ดเทียมจะมีความสม่ำเสมอและเป็นแบบเดียวกัน การผลิตเมล็ดเทียมมักเติมสารอาหารที่จำเป็นในวัสดุเจล เพื่อเลียนแบบเมล็ดพืชตามธรรมชาติ เช่น เกลืออินทรีย์/อนินทรีย์ แหล่งคาร์บอน สารควบคุมการเจริญเติบโต และสารต้านจุลินทรีย์ (Bapat, 2000)

ข้อดีของเมล็ดเทียม (Saiprasad, 2001)

1. ง่ายต่อการขนส่ง เนื่องจากใช้พื้นที่ในการบรรจุน้อย ทำให้ลดต้นทุนการผลิตได้

2. ลดขั้นตอนยุ่งยากในการชักนำรากและการปรับสภาพต้นอ่อนในสภาพปลอดเชื้อ เนื่องจากสามารถปลูกลงแปลงได้โดยตรง

3. ง่ายต่อการจัดการเมื่อใช้ในการเก็บรักษาพันธุ์พืช และทำให้การเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานมีประสิทธิภาพ

มีการนำเทคโนโลยีการผลิตเมล็ดเทียมมาใช้กับกล้วยเช่น Ganapathi และคณะ (1992) ผลิตเมล็ดเทียมของกล้วยพันธุ์ 'Basrai' โดยหุ้มส่วนปลายยอดด้วยโซเดียมอัลจิเนต 3 เปอร์เซ็นต์ ที่เตรียมด้วยอาหารสูตร MS ที่มี NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และยาปฏิชีวนะ และผงถ่าน 0.1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 2.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนพืชชนิดอื่นๆ ที่นำเทคโนโลยีการผลิตเมล็ดเทียมมาใช้ เช่น *Camellia japonica* L. โดย Ballester และคณะ (1997) และ Janeiro และคณะ

(1997) มันฝรั่ง (*Solanum tuberosum* L.) โดย Sarkar และ Naik (1998) สับปะรด (*Ananas comosus* L. Merr. Cv. Queen) โดย Soneji และคณะ (2002) และแอปเปิล (*Malus pumila* Mill.) โดย Piccioni (1997) และ Sicurani และคณะ (2001) เป็นต้น

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาอิทธิพลของชิ้นส่วนเริ่มต้น การวางเลี้ยงชิ้นส่วนแบบต่างๆ และสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มจำนวนยอดกล้วยหิน
2. ชักนำรากและปรับสภาพต้นกล้วยหินที่ได้จากการเพิ่มจำนวนเพื่อปลูกลงดิน
3. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการชะลอการเจริญเติบโตต้นกล้วยหิน และการรอดชีวิตหลังผ่านการชะลอการเจริญเติบโต
4. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตและเก็บเมล็ดเทียม รวมทั้งการเจริญเติบโตของต้นกล้วยหินที่เกิดจากเมล็ดเทียม

บทที่ 2

วิธีการทดลอง

วัสดุ

พืชทดลอง

พืชที่ใช้ในการทดลอง คือ หน่อ และปลีกล้วยหิน (*Musa balbisiana* 'Kluai Hin') จากสวนในเขตอำเภอบันนังสตา จังหวัดยะลา

1. สารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ

- เอธิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์
- คลอรอกซ์ และสารจับใบทวีน 20 (Tween 20)

2. สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบในสูตรอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962) (ภาคผนวก ก)

3. สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชได้แก่ BA TDZ และน้ำมะพร้าว

4. น้ำตาลที่ใช้ในการเก็บรักษาต้นกล้วยหินในขวดทดลองได้แก่ น้ำตาลซูโครส กลูโคส และซอร์บิทอล

5. สารเคมีที่ใช้ในผลิตเมล็ดเทียม

- สารละลายกรดแอบซิสซิค (abscisic acid; ABA) ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
- สารละลายโซเดียมอัลจิเนต (sodium alginate) ความเข้มข้น 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่เตรียมด้วยน้ำกลั่นหรืออาหารเหลวสูตร MS
- สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (calcium chloride) ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง (ยี่ห้อ Mettler รุ่น PJ 100 และ 400 ตามลำดับ)
- เตาแม่เหล็กไฟฟ้า (stirring hot plate) (ยี่ห้อ Heidolph รุ่น MR 300)
- เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter) (ยี่ห้อ Horiba รุ่น pH - METER F-13)
- เตาอบไมโครเวฟ (microwave oven) (ยี่ห้อ Sharp รุ่น R-245)
- หม้อนึ่งอัดไอ (autoclave) (ยี่ห้อ Eyela รุ่น MAC-601)

2. ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow cabinet)

3. เครื่องมือที่ใช้ในการย้ายเลี้ยงเนื้อเยื่อ การเก็บรักษาต้นกล้วยหิน และการผลิตเมล็ด-เทียม ได้แก่ ปากคีบ มีดผ่าตัด จานเลี้ยงเชื้อ พาราฟิล์ม

4. เครื่องแก้วและพลาสติก ได้แก่ บีกเกอร์ ฟลาสก์ ขวดแก้วพร้อมฝาปิด ชุดกรอง Costar μStar® แผ่นกรองขนาด 0.22 ไมครอน กระบอกตวง ปิเปต หลอดแก้วที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร

5. ชั้นสำหรับวางขวดเพาะเลี้ยงติดหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์สีขาวความเข้มแสง 28 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาทีเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส และ 4 $\pm$ 2 องศาเซลเซียสสำหรับการทดลองการเก็บรักษาต้นกล้วยหิน

6. เครื่องปรับอุณหภูมิและความชื้น และนาฬิกาควบคุมเวลา

วิธีการ

1. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นกล้วยหิน

1.1 การเตรียมชิ้นส่วน

- ชิ้นส่วนตายอด และตาข้าง

1.ขุดหน่อกล้วยหินที่แทงขึ้นมาจากพื้นดินสูงประมาณ 30 - 60 เซนติเมตร ล้างดินออกให้หมด (ภาพที่ 3a, 3b) ตัดปลายด้านบนของหน่อทิ้งและลอกกาบใบจนเหลือความสูงประมาณ 20 - 25 เซนติเมตร ล้างด้วยน้ำยาทำความสะอาด (detergent) แล้วตามด้วยน้ำล้างออกให้สะอาด

2.ลอกกาบใบจนพบตาข้าง จากนั้นใช้มีดแซะให้ได้รูปทรงลูกบาศก์ขนาด 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร ส่วนตาที่อยู่ตรงกลางหน่อเป็นตายอดตัดให้เหลือความยาว 5 - 6 เซนติเมตร

- ชิ้นส่วนปลี

1. ตัดปลีกล้วยหินจากต้น ล้างด้วยน้ำยาทำความสะอาด แล้วตามด้วยน้ำล้างออกให้สะอาด (ภาพที่ 4a, 4b)

2. ลอกกาบปลีจนมีขนาดความยาว 4 - 5 เซนติเมตร (ภาพที่ 4c)

1.2 การฟอกฆ่าเชื้อ (ทำในตู้ปลอดเชื้อ)

1. นำชิ้นส่วนตายอด ตาข้าง และปลี แช่ในเอธิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 วินาที จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อสองขั้นตอนดังนี้

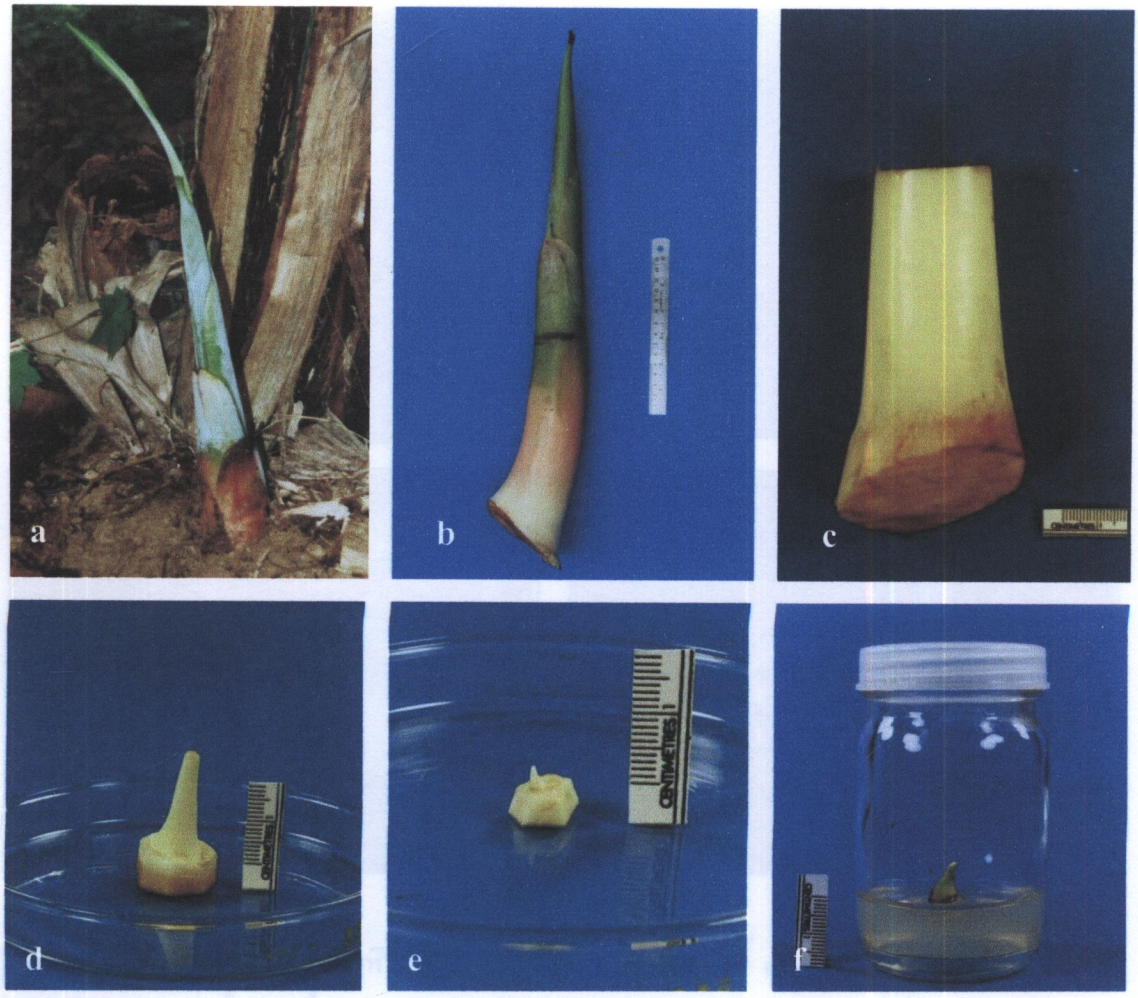
ขั้นที่ 1 แช่ชิ้นส่วนลงในสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับสารจับใบทวีน 20 ปริมาณ 2 หยด นาน 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้ง

ขั้นที่ 2 แช่ชิ้นส่วนลงในสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับสารจับใบทวีน 20 ปริมาณ 2 หยด นาน 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้ง (ภาพที่ 3d)

2. ตัดแต่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่เสียหายจากการสัมผัสกับคลอรอกซ์ให้มีขนาดประมาณ 1.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร สำหรับตายอดและตาข้าง (ภาพที่ 3e) และความยาว 3 เซนติเมตร สำหรับปลี จากนั้นวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 3f, 4d)

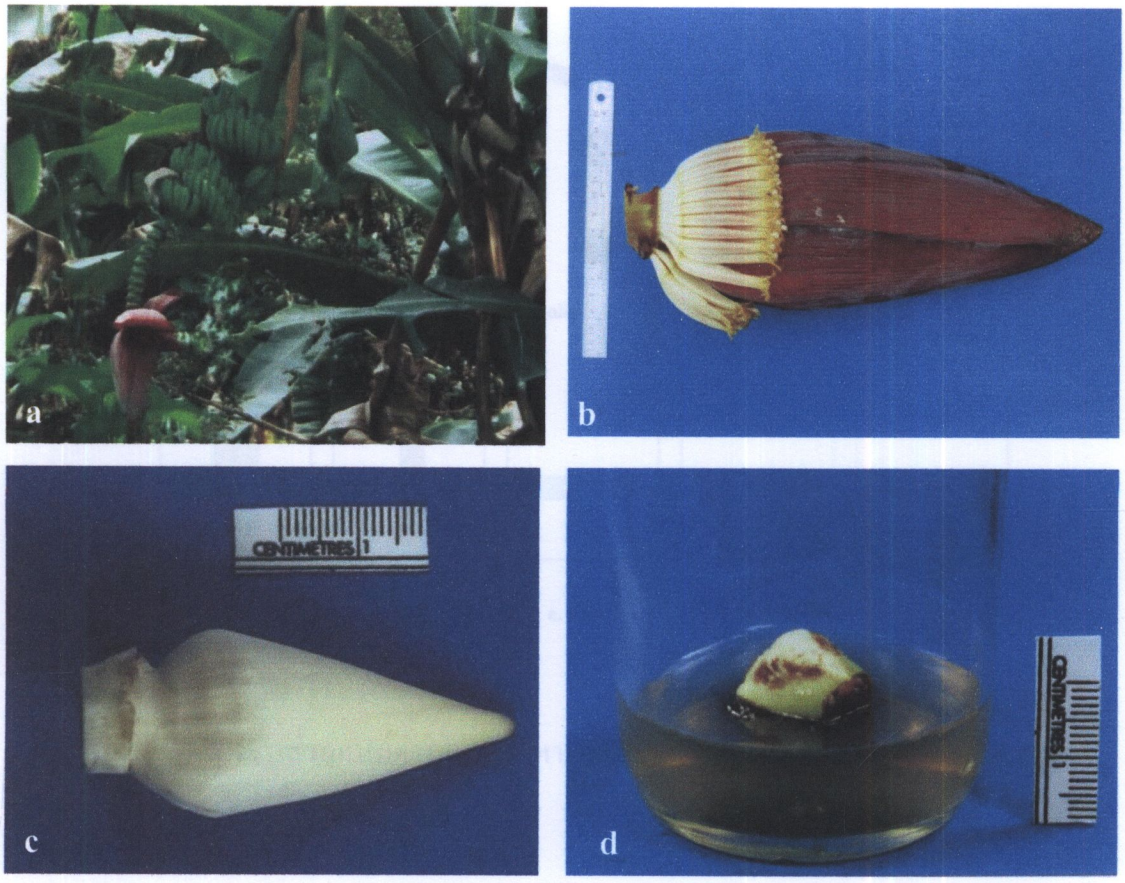
3. ย้ายเลี้ยงทุกๆ 3 สัปดาห์ โดยตัดส่วนที่เกิดสีดำออก แล้ววางเลี้ยงบนอาหารใหม่สูตรเดิม

4. บันทึกลักษณะการเปลี่ยนแปลง การพัฒนาของชิ้นส่วนต่างๆ และระยะเวลาของชิ้นส่วนในการพัฒนาเป็นต้น



ภาพที่ 3 ลักษณะหน่อ ตายอดและตาข้างของกล้วยหิน a, b) ขนาดของหน่อที่ใช้ในการทดลองนี้ (ความยาว 30 - 60 เซนติเมตร) c) หน่อที่ตัดจนเหลือความยาว 20 - 25 เซนติเมตร ลอกกาบชั้นนอก และฟอกด้วยน้ำยาทำความสะอาดแล้ว d) ชิ้นส่วนที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อสองขั้นตอน e) ชิ้นส่วนที่ผ่านการตัดแต่งแล้ว f) ชิ้นส่วนที่วางเลี้ยงบนอาหารชักนำต้น

Figure 3 Characteristic of suckers apical and lateral buds of Kluai Hin a, b) Size of suckers used in this experiment (30-60 cm in length) c) 20-25 cm long, removed outer layers and cleaned with detergent sucker. d) Double surface sterilized explant. e) Trimmed explant. f) Cultured on shoot induction medium explant.

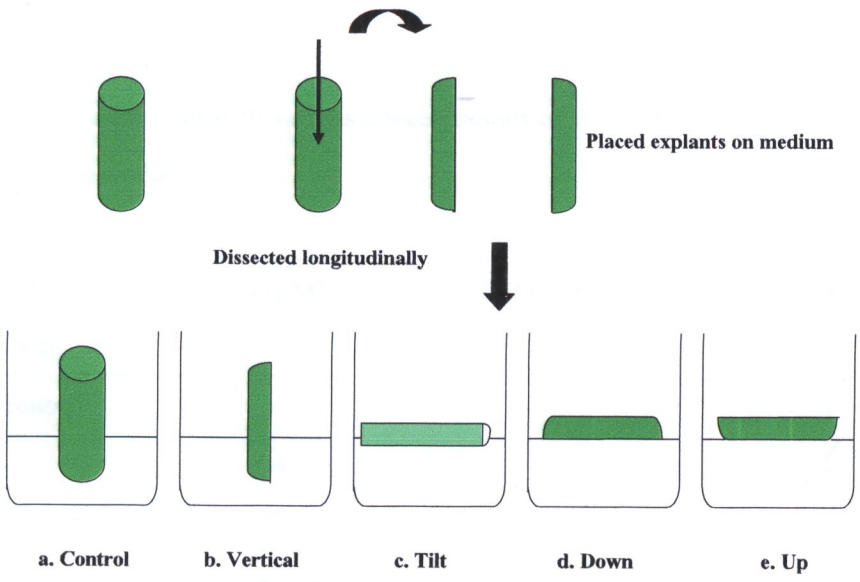


ภาพที่ 4 ลักษณะปลีของกล้วยหิน a, b) ปลีที่ใช้ในการทดลองนี้ c) ปลีที่ลอกส่วนกาบนอกออก ฟอกฆ่าเชื้อสองขั้นตอน และลอกกาบจนมีขนาดความยาวประมาณ 4 - 5 เซนติเมตร d) ชิ้นส่วนที่วางเลี้ยงบนอาหารชักนำต้น

Figure 4 Characteristic of floral apex of Kluai Hin a, b) Floral apex used in this experiment. c) Removed outer layers, double surface sterilized and discarded leaf sheaths to 4 - 5 cm long explant. d) Cultured on shoot induction medium explant.

2. การวางเลี้ยงชิ้นส่วนตายอดต้นกล้วยหินแบบต่างๆ

ตัดส่วนตายอดของต้นกล้วยหินที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกให้เหลือความยาวของชิ้นส่วนประมาณ 1.5 เซนติเมตร จากนั้นผ่าตามยาวเป็นสองส่วน แล้ววางเลี้ยงในลักษณะต่างๆ กัน ได้แก่ การวางในแนวตั้ง ตะแคง คว่ำและหงายส่วนที่ผ่าบนอาหารสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ (ภาพที่ 5b 5c 5d และ 5e ตามลำดับ) โดยชิ้นส่วนที่ไม่ผ่าวางเลี้ยงในแนวตั้งเป็นชุดควบคุม (ภาพที่ 5a) บันทึกจำนวนยอดที่ได้จากการวางเลี้ยงชิ้นส่วนแบบต่างๆ



ภาพที่ 5 การวางเลี้ยงชิ้นส่วนแบบต่างๆ บนอาหารเลี้ยง

Figure 5 Orientation of explants on media.

3. สูตรอาหารเพาะเลี้ยงสำหรับการเพิ่มจำนวนยอดกล้วยหิน

ตัดส่วนปลายยอดของต้นกล้วยหินที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อออกให้เหลือความยาวของชิ้นส่วนประมาณ 1.5 เซนติเมตร จากนั้นผ่าตามยาวเป็นสองส่วน วางเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ ดังตารางที่ 2 เป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยย้ายเลี้ยงลงอาหารใหม่สูตรเดิมทุกๆ 3 สัปดาห์ บันทึกจำนวนยอดที่ได้จากการเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆ กัน

ตารางที่ 2 อาหารสูตร MS ที่มี BA TDZ และน้ำมะพร้าวความเข้มข้นต่างๆ กัน เพื่อชักนำให้มีการเพิ่มจำนวนยอดกล้วยหิน

Table 2 MS culture medium with various concentrations of BA TDZ and CW (coconut water) incorporated into the media.

Treatment/MS medium with	BA (μM)	TDZ (μM)	CW (%, v/v)
1 control	-	-	-
2	4.4	-	-
3	22	-	-
4	44	-	-
5	4.4	-	15
6	22	-	15
7	44	-	15
8	-	0.1	-
9	-	0.5	-
10	-	1	-
11	-	5	-
12	-	10	-
13	-	0.1	15
14	-	0.5	15
15	-	1	15
16	-	5	15
17	-	10	15

4. การชักนำรากและปรับสภาพต้นกล้วยหินที่ได้จากการเพิ่มจำนวนเพื่อปลูกลงดิน

4.1 การชักนำราก

1. ตัดแบ่งกลุ่มยอดกล้วยหินที่ได้จากการชักนำยอด โดยเลือกต้นที่มีใบประมาณ 2-3 ใบ ให้เป็นยอดเดี่ยวๆ

2. นำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อชักนำราก

4.2 การปรับสภาพต้นอ่อน

1. นำยอดกล้วยหินที่มีรากตั้งแต่ 2 รากขึ้นไป ล้างวุ้นออกให้หมด แล้วนำมาเพาะเลี้ยงในเวอร์มิคูไลต์ปลอดเชื้อ รดน้ำกลั่นพอชุ่มชื้น ปิดฝา เลี้ยงที่สภาวะเดิมเป็นเวลา 2 สัปดาห์

2. เปิดฝาขวด วางเลี้ยงที่สภาวะเดิม และรดน้ำพอชุ่มชื้นทุกวันเป็นเวลา 1 สัปดาห์

3. เมื่อต้นกล้วยมีความแข็งแรงแล้วย้ายลงกระถางปลูกที่มีดินลำดวน มีส่วนผสมของดิน แกลบ เถ้า และขุยมะพร้าว วางเลี้ยงที่สภาวะเดิมเป็นเวลา 2-3 วัน จากนั้นย้ายไปปลูกลงแปลงหรือเรือนเพาะชำ

4. บันทึกการพัฒนาการเกิดรากของต้นกล้วยหิน ลักษณะของรากที่ได้ และระยะเวลาในการเกิดราก

5. สภาวะที่เหมาะสมต่อการชะลอการเจริญเติบโตของยอดกล้วยหิน และการรอดชีวิตหลังผ่านการชะลอการเจริญเติบโต

1. แยกต้นกล้วยหินเป็นต้นเดี่ยวๆ และตัดส่วนปลายออกให้ต้นมีความสูงประมาณ 3 เซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA 4.4 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 14 วัน เพื่อให้ต้นกล้วยหินมีการปรับตัวและลดบาดแผลที่เกิดจากการตัดแต่ง

2. นำยอดกล้วยหินที่ผ่านการปรับตัววางบนก้อนสำลีที่มีสารละลายน้ำตาลชนิดต่างๆ กัน ได้แก่ น้ำตาลซูโครส กลูโคส และซอร์บิทอล ความเข้มข้น 1 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยมีน้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม ใช้สารละลายน้ำตาลปริมาตร 20 มิลลิลิตร เลี้ยงในขวดทดลองขนาด 4 ออนซ์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 หรือ 25 องศาเซลเซียส เก็บในที่มืดหรือที่มีแสงเป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน

3. ย้ายยอดกล้วยหินที่ผ่านการเก็บเป็นเวลา 6 เดือนลงเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ และบันทึกความมีชีวิตของต้นกล้วยหิน

6. สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตและเก็บรักษาเมล็ดเทียม รวมทั้งการเจริญเติบโตของต้นกล้วยหินที่เกิดจากเมล็ดเทียม

1. ตัดชิ้นส่วนตายอดกล้วยหินให้มีขนาดความยาวประมาณ 0.3 เซนติเมตร แช่หรือไม่แช่ลงในสารละลาย ABA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 20 นาที โดยทำให้ ABA ปลอดเชื้อด้วยการกรอง

2. นำชิ้นส่วนตายอดที่ตัดแต่งแล้วจุ่มลงในสารละลายโซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้น 2 หรือ 3 เปอร์เซ็นต์ ที่เตรียมด้วยน้ำกลั่นหรืออาหารเหลวสูตร MS

3. ใช้หลอดแก้วที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร ดูดชิ้นส่วนตายอดที่อยู่ในสารละลายโซเดียมอัลจิเนตหยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ที่เตรียมด้วยน้ำกลั่น เป็นเวลา 20 นาที

4. ล้างเมล็ดเทียมที่ได้ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้ง

5. ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองปลอดเชื้อ

6. เก็บรักษาเมล็ดเทียมเป็นเวลา 0 15 และ 30 วัน บนสำลีปลอดเชื้อในขวดทดลอง ที่สภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในที่มืดหรือมีแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ให้ความชื้นด้วยอาหารเหลวสูตร¼MS

7. ชักนำเมล็ดเทียมให้เกิดต้นโดยการวางเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ หรือเวอร์มิคูไลต์ผสมดินในอัตรา 1 : 1

ตรวจนับจำนวนต้นกล้วยหินที่รอดชีวิต และสามารถเจริญเติบโตเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้

อาหารเพาะเลี้ยง

อาหารเพาะเลี้ยงทุกสูตรใช้น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ และวุ้นตรานางเงือก 0.7 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) และปรับค่าพีเอชเป็น 5.8 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล หรือไฮโดรเจนคลอไรด์ 0.1 นอร์มอล ก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 1.05 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

การคำนวณค่าทางสถิติ

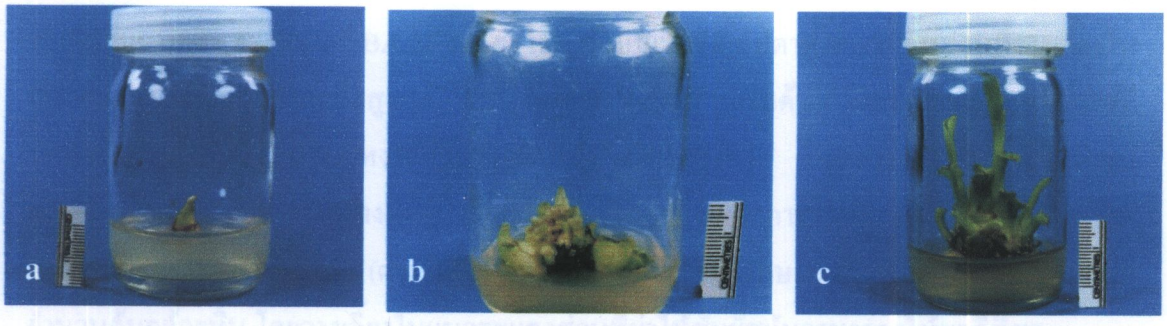
การทดลองศึกษาชิ้นส่วนเริ่มต้นสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นกล้วยหิน การวางเลี้ยงชิ้นส่วนต้นกล้วยหินแบบต่างๆ สูตรอาหารเพาะเลี้ยงสำหรับเพิ่มจำนวนต้นกล้วยหิน แต่ละชุดการทดลองทำ 3 ซ้ำ (Replication) แต่ละซ้ำทำ 10 ขวด ขวดละ 1 ชิ้น ส่วนการทดลองศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตและเก็บเมล็ดเทียม รวมทั้งการเจริญเติบโตของต้นกล้วยหินที่เกิดจากเมล็ดเทียม แต่ละชุดการทดลองทำ 2 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลด้วยวิธี One-Way Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธีของ DMRT (Duncan's Multiple Range Test) วิเคราะห์โดยใช้โปรแกรม SPSS 10.0

บทที่ 3

ผลการทดลอง

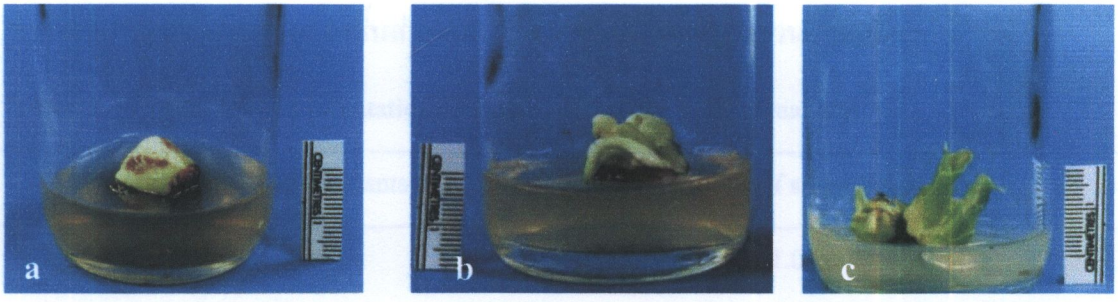
1. ชิ้นส่วนเริ่มต้นสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นกล้วยหิน

หลังจากเลี้ยงชิ้นส่วนตายอด ตาข้าง และปลีบนอาหารสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ พบว่าชิ้นส่วนตายอดและตาข้างหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 8 วัน ส่วนที่สัมผัสกับอาหารจะเป็นสีดำ ต่อมาตายอดจะมีขนาดใหญ่ขึ้นหลังจากเลี้ยง 15 วัน ส่วนตาข้างเกิดการบวมตรงส่วนเนื้อเยื่อที่อยู่รอบๆ ตา เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 49 วัน พบว่าชิ้นส่วนตายอดและตาข้างมีการพัฒนาเกิดเป็นต้นและมีใบเป็นจำนวนมาก (ภาพที่ 6) แต่ชิ้นส่วนตายอดจะให้ต้นที่มีลักษณะสมบูรณ์กว่าตาข้าง สำหรับชิ้นส่วนปลี หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 2 วัน ส่วนที่สัมผัสกับอาหารจะเป็นสีดำ และเมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 8 วัน ส่วนที่ไม่สัมผัสกับอาหารจะมีการเปลี่ยนแปลงจากสีขาวครีมเป็นสีเขียว มีการพัฒนาของเนื้อเยื่อเป็นตุ่มเล็กๆ เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 15 วัน และมีขนาดใหญ่ขึ้นในเวลาต่อมา เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 84 วัน พบว่าตุ่มเล็กๆ เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นต้นได้ (ภาพที่ 7) ดังนั้นชิ้นส่วนที่เหมาะสมต่อการใช้เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในการเพิ่มจำนวนต้นกล้วยหินคือ ส่วนตายอดและตาข้าง เนื่องจากใช้ระยะเวลาในการพัฒนาเป็นต้นน้อยกว่าส่วนปลี



ภาพที่ 6 การพัฒนาเป็นต้นของตายอดกล้วยหิน a) ตายอดที่เกิดการบวมหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 8 วัน b) ตายอดที่พัฒนาเพิ่มจำนวนเป็นตาเล็กๆ หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 15 วัน c) ตาเล็กๆ ที่พัฒนาเป็นต้นสมบูรณ์หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 49 วัน

Figure 6 Development of apical bud of Kluai Hin. a) Apical bud swelled after culture for 8 days. b) Apical bud developed to multiple buds after culture for 15 days. c) Multiple buds developed to shoots after culture for 49 days.



ภาพที่ 7 การพัฒนาเป็นต้นของปลีกล้วยหิน a) ปลีส่วนที่สัมผัสกับอาหารเปลี่ยนจากสีขาวครีมเป็นสีดำหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 2 วัน ในขณะที่ส่วนที่ไม่สัมผัสกับอาหารเปลี่ยนเป็นสีเขียวหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 8 วัน b) เนื้อเยื่อที่พัฒนาเป็นตุ่มเล็กๆ จำนวนมากหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 15 วัน c) ตุ่มที่มีการพัฒนาเป็นต้นหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 84 วัน

Figure 7 Development of floral apex of Kluai Hin. a) Floral apex changed from cream-white to black color after culture for 2 days, while some buds changed to green after culture for 8 days. b) Small clumps occurred after culture for 15 days. c) Clumps developed to shoots after culture for 84 days.

2. การวางเลี้ยงชิ้นส่วนตายอดต้นกล้วยหินแบบต่างๆ

หลังจากเลี้ยงชิ้นส่วนตายอดโดยวางต้นในแนวตั้ง ตะแคง คว่ำ และหงายส่วนที่ผ่าให้สัมผัสกับอาหารสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนที่วางเลี้ยงในแนวตะแคงให้จำนวนต้นเฉลี่ยสูงสุด 5.7 ต้นต่อหนึ่งชิ้นส่วนเริ่มต้น โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการวางเลี้ยงแบบหงายส่วนที่ผ่าไม่ให้สัมผัสกับอาหาร และการวางเลี้ยงโดยไม่ผ่าชิ้นส่วน แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากจำนวนต้นที่ได้จากการวางเลี้ยงแบบคว่ำส่วนที่ผ่าให้สัมผัสกับอาหาร และแนวตั้ง (ตารางที่ 3) ดังนั้น การวางเลี้ยงลักษณะต่างๆ มีอิทธิพลต่อการเพิ่มจำนวนต้นกล้วยหิน โดยวางเลี้ยงในแนวตะแคงส่วนที่ผ่าให้สัมผัสกับอาหารจะให้ผลดีที่สุด

ตารางที่ 3 ผลของการวางเลี้ยงชิ้นส่วนแบบต่างๆ ที่มีต่อการเพิ่มจำนวนยอดกล้วยหิน

Table 3 Effect of explant orientation on shoot multiplication of 'Kluai Hin'

Orientation of explants	Mean of shoot number ± SE
Control	1.00 ± 0.000c
Vertical	4.75 ± 0.750ab
Tilt	5.75 ± 0.750a
Down	3.00 ± 0.577b
Up	5.25 ± 0.479a
F-test	**

หมายเหตุ **แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการเปรียบเทียบโดย DMRT ($p \leq 0.01$)

Note ** Highly significant different at the 99% confidence level.

Means followed by different letters in column are significantly different by DMRT ($p \leq 0.01$)

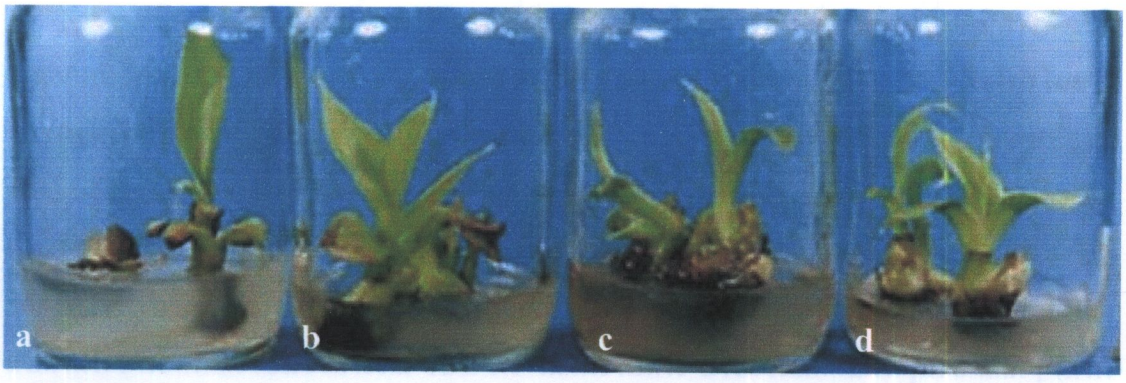
3. สูตรอาหารเพาะเลี้ยงสำหรับการเพิ่มจำนวนยอดกล้วยหิน

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนตายอดกล้วยหินบนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดและความเข้มข้นต่างๆ กัน เป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยมีการย้ายเลี้ยงทุกๆ 3 สัปดาห์ ให้ผลดังนี้

3.1 อาหารสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้นต่างๆ

ชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA 4.4 และ 22 ไมโครโมลาร์ ในสัปดาห์ที่ 3 มีการพัฒนาเป็นกลุ่มยอด และแตกหน่อเพิ่มขึ้น ชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA 44 ไมโครโมลาร์ มีการพัฒนาเป็นยอด แต่ลักษณะยอดยังเจริญเติบโตไม่สมบูรณ์ สัปดาห์ที่ 6 กลุ่มยอดที่เกิดบนอาหารที่มี BA 4.4 22 และ 44 ไมโครโมลาร์ มีการเจริญเติบโตและแตกหน่อเพิ่มมากขึ้น (ภาพที่ 8b 8c และ 8d) สัปดาห์ที่ 9 ยอดกล้วยหินที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA 4.4 22 และ 44 ไมโครโมลาร์ ยังคงมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้น แต่ยอดกล้วยหินที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA 4.4 ไมโครโมลาร์ บางยอดเกิดราก

ในสัปดาห์ที่ 12 ยอดกล้วยหินที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA ทั้งสามความเข้มข้นมีการเพิ่มจำนวนหน่อมากขึ้นและมากที่สุดเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี BA 44 ไมโครโมลาร์ ลักษณะใบของยอดกล้วยหินที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA ทั้งสามความเข้มข้นไม่แตกต่างกัน และมีการแผ่กว้างของใบเป็นปกติ



ภาพที่ 8 การพัฒนาของชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 0 (a) 4.4 (b) 22 (c) และ 44 ไมโครโมลาร์ (d) เป็นเวลา 6 สัปดาห์

Figure 8 Explant development growing on MS medium containing 0 (a), 4.4 (b), 22 (c) and 44 μM BA (d) for 6 weeks.

3.2 อาหารสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้นต่างๆ และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์

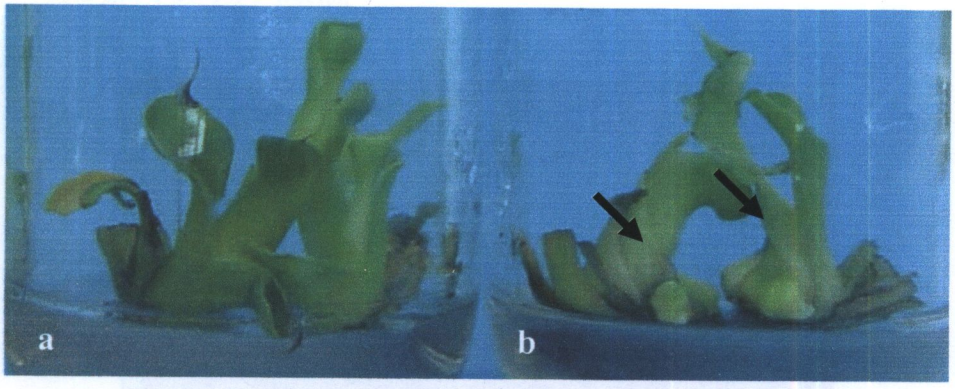
ชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA 4.4 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ สัปดาห์ที่ 3 มีการพัฒนาเป็นยอดและแตกหน่อ มียอดส่วนหนึ่งเกิดราก ชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ มีการพัฒนาเป็นยอด และมีการแตกหน่อเพิ่มมากขึ้น การพัฒนาเป็นยอดของชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA 44 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ดีกว่าชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA 4.4 และ 22 ไมโครโมลาร์ ที่มีน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ สัปดาห์ที่ 6 ยอดกล้วยหินที่เกิดบนอาหารที่มี BA ทั้งสามความเข้มข้นมีการเจริญเติบโต และเพิ่มจำนวนหน่อมากขึ้น สัปดาห์ที่ 9 พบว่ายังคงมีการเพิ่มจำนวนหน่อมากขึ้น และจะคงที่ในสัปดาห์ที่ 12 ลักษณะใบของต้นกล้วยหินที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA ทั้งสามความเข้มข้นที่มีน้ำมะพร้าวไม่แตกต่างจากใบของต้นที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA ไม่มีน้ำมะพร้าว

ยอดกล้วยหินที่ได้จากชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA ความเข้มข้นต่างกันมีลักษณะการเจริญเติบโตและการพัฒนาเป็นยอดไม่แตกต่างกัน แต่ยอดกล้วยหินที่เกิดจากชิ้นส่วนที่

เลี้ยงบนอาหารที่มี BA 44 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าวมีขนาดใหญ่กว่าเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี BA ความเข้มข้นอื่นๆ

3.3 อาหารสูตร MS ที่มี TDZ ความเข้มข้นต่างๆ

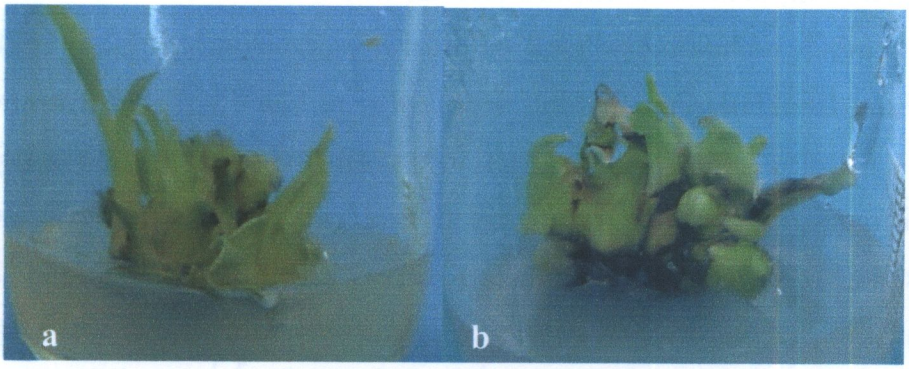
ชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี TDZ 0.1 ไมโครโมลาร์ สัปดาห์ที่ 3 มีการพัฒนาเป็นยอดที่มีลักษณะปกติ (ภาพที่ 9a) แต่ชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี TDZ 0.5 ไมโครโมลาร์ มีการพัฒนาเป็นยอดที่มีลักษณะอวบ ลำต้นสั้นเมื่อเทียบกับต้นปกติ และมีตุ่มเล็กๆ เกิดขึ้นที่ฐานของชิ้นส่วน (ศรชี้) (ภาพที่ 9b) สัปดาห์ที่ 6 ยอดกล้วยหินที่เกิดบนอาหารที่มี TDZ 0.1 ไมโครโมลาร์ มีความแข็งแรงสมบูรณ์และมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้น แต่ยอดที่เกิดบนอาหารที่มี TDZ 0.5 ไมโครโมลาร์ ไม่มีการยืดยาวขึ้น แต่จะมีแผ่นใบเพิ่มขึ้น และตุ่มที่เกิดขึ้นยังคงไม่มีการเปลี่ยนแปลง สัปดาห์ที่ 9 ยอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี TDZ 0.1 ไมโครโมลาร์ บางส่วนเกิดเป็นกลุ่มยอดเล็กๆ (ภาพที่ 10a) ส่วนยอดกล้วยหินที่เกิดบนอาหารที่มี TDZ 0.5 ไมโครโมลาร์ มีการพัฒนาเป็นทั้งยอดและตุ่มเล็กๆ (ภาพที่ 10b) สัปดาห์ที่ 12 กลุ่มยอดเล็กๆ ที่เกิดบนอาหารที่มี TDZ 0.1 ไมโครโมลาร์ มีการพัฒนาเป็นยอดที่สมบูรณ์ และยังคงมีการเพิ่มจำนวนยอดมากขึ้น (ภาพที่ 11a) ส่วนยอดที่เกิดบนอาหารที่มี TDZ 0.5 ไมโครโมลาร์ มีการเจริญเติบโตมากขึ้น ตุ่มเล็กๆ ที่เกิดขึ้นนั้นยังคงไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆ (ภาพที่ 11b)



ภาพที่ 9 การเจริญเติบโตเป็นยอดของกล้วยหินเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี TDZ 0.1 (a) และ 0.5 ไมโครโมลาร์ (b) เป็นเวลา 3 สัปดาห์

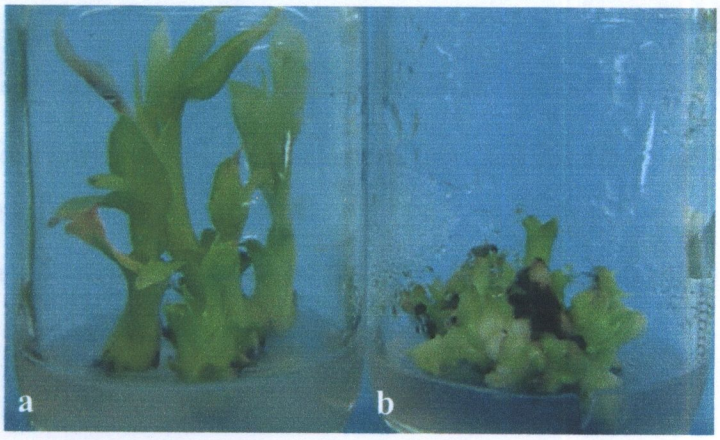
Figure 9 Shoots production growing on MS medium containing 0.1 (a) and 0.5 µM TDZ (b) for 3 weeks.

ยอดกล้วยหินที่พัฒนาบนอาหารที่มี TDZ 0.1 และ 0.5 ไมโครโมลาร์ จะมีใบที่มีลักษณะสั้นในช่วง 3 และ 6 สัปดาห์แรกของการเลี้ยง จากนั้นจะค่อยๆ ยืดยาวขึ้นเหมือนกับยอดที่ได้จากการเลี้ยงบนอาหารที่มี BA



ภาพที่ 10 a) การเกิดกลุ่มยอดของกล้วยหินที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี TDZ 0.1 ไมโครโมลาร์เป็นเวลา 9 สัปดาห์ b) การเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเป็นตุ่มและยอดเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี TDZ 0.5 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 9 สัปดาห์

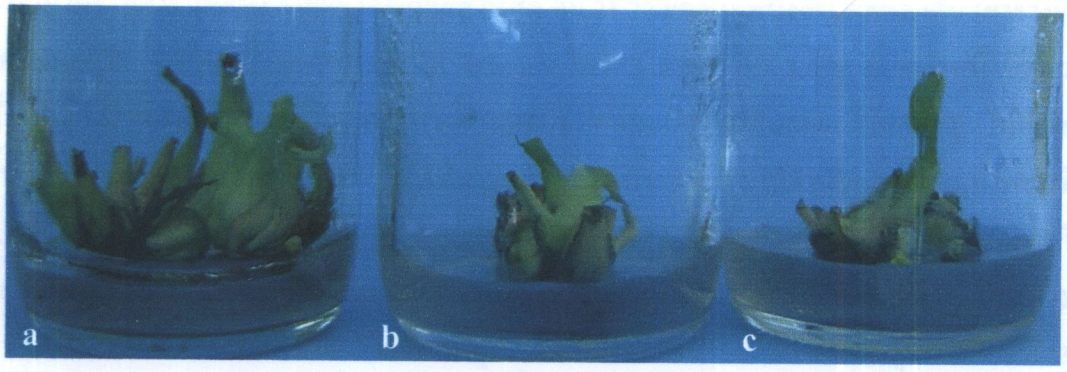
Figure 10 a) Fasciations of shoots growing on MS medium containing 0.1 µM TDZ for 9 weeks. b) Explant differentiation to clusters and plantlet growing on MS medium containing 0.5 µM TDZ for 9 weeks.



ภาพที่ 11 การเจริญเติบโตเป็นยอดของกล้วยหินเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี TDZ 0.1 (a) และ 0.5 ไมโครโมลาร์ (b) เป็นเวลา 12 สัปดาห์

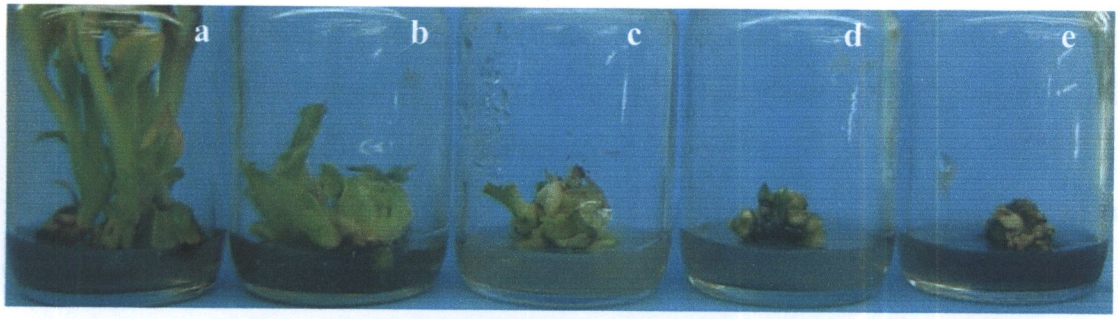
Figure 11 Shoots production growing on MS medium containing 0.1 (a) and 0.5 µM TDZ (b) for 12 weeks.

ชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี TDZ 1 ไมโครโมลาร์ สัปดาห์ที่ 3 มีการพัฒนาเป็นยอด โดยจะมีทั้งยอดที่มีลักษณะปกติ ซึ่งมีจำนวนน้อยกว่ายอดที่มีลักษณะอวบ ลำต้นสั้นกว่าปกติ (ภาพที่ 12a) แต่ชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี TDZ 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ มีการพัฒนาเป็นยอดมีลักษณะอวบ ลำต้นสั้นเท่านั้น (ภาพที่ 12b 12c) สัปดาห์ที่ 6 ยอดที่เกิดบนอาหารที่มี TDZ 1 ไมโครโมลาร์ ซึ่งมีลำต้นสั้นจะมีการยืดตัวขึ้นเล็กน้อย และบางยอดมีตุ่มเล็กๆ เกิดขึ้นที่ฐาน ส่วนยอดที่เกิดบนอาหารที่มี TDZ 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ ไม่มีการยืดตัวขึ้น แต่มีแผ่นใบเพิ่มขึ้น มีการเกิดเป็นตุ่มจำนวนมากกว่ายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี TDZ 0.5 ไมโครโมลาร์ สัปดาห์ที่ 9 และ 12 ยอดที่เกิดบนอาหารที่มี TDZ 1 ไมโครโมลาร์ มีการพัฒนาเจริญเติบโตขึ้น แต่ไม่มีการเพิ่มจำนวนและตุ่มที่เกิดยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆ (ภาพที่ 13a) ยอดที่เกิดบนอาหารที่มี TDZ 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ ยังไม่มีการพัฒนาเป็นยอดที่สมบูรณ์ แต่ตุ่มจะมีการเพิ่มจำนวนและแน่นขึ้น และมีการปล่อยสารสีดำทำให้อาหารที่เลี้ยงเป็นสีดำด้วย โดยที่ TDZ ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ จะมีการปล่อยสารสีดำมากที่สุด (ภาพที่ 13b 13c)



ภาพที่ 12 การพัฒนาของชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี TDZ 1 (a) 5 (b) และ 10 ไมโครโมลาร์ (c) เป็นเวลา 3 สัปดาห์

Figure 12 Explant development growing on MS medium containing 1 (a) 5 (b) and 10 μM TDZ (c) for 3 weeks.



ภาพที่ 16 การพัฒนาของชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี TDZ 0.1 (a) 0.5 (b) 1 (c) 5 (d) และ 10 ไมโครโมลาร์ (e) และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Figure 16 Explant development growing on MS medium containing 0.1 (a) 0.5 (b) 1 (c) 5 (d) and 10 μM TDZ (e) and coconut water 15% (v/v) for 12 weeks.

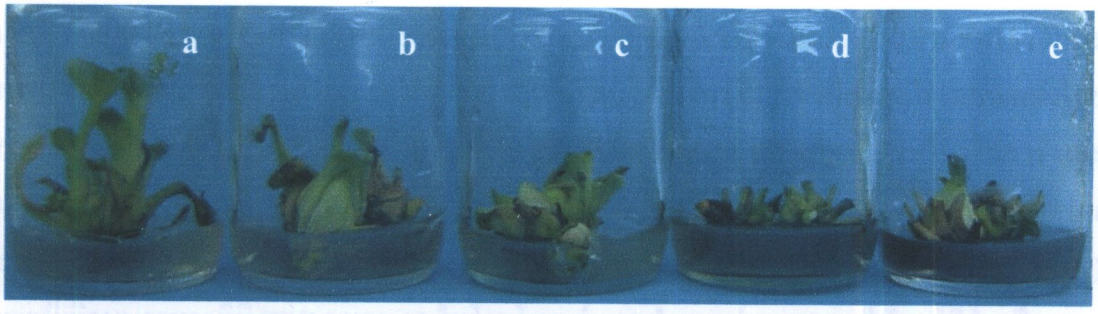
การเพิ่มจำนวนยอดกล้วยหินเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญ-เติบโตชนิด และความเข้มข้นต่างๆ กัน เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA 44 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนยอดโดยเฉลี่ยสูงที่สุด คือ 21.22 ยอดต่อหนึ่งชิ้นส่วนเริ่มต้น (ตารางที่ 4) รองลงมาเป็นชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ คือ 15.30 ยอดต่อหนึ่งชิ้นส่วนเริ่มต้น โดยทั้งสองความเข้มข้นให้จำนวนต้นเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี TDZ 0.5 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว ให้จำนวนยอดสูงสุดโดยเฉลี่ย 7.33 ยอดต่อหนึ่งชิ้นส่วนเริ่มต้น เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่มี TDZ ทั้งหมด ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA 44 ไมโครโมลาร์ (ตารางที่ 4) ดังนั้นอาหารที่สามารถชักนำยอดกล้วยหินได้จำนวนมากที่สุดสำหรับการศึกษาครั้งนี้คือ อาหารสูตร MS ที่มี BA 44 ไมโครโมลาร์

และน้ำมะพร้าว ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆ (ภาพที่ 16a 16b 16c) สำหรับยอดที่มีแผ่นใบอัดแน่น ใบและลำต้นสั้นที่เกิดบนอาหารที่มี TDZ 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว พบว่ายังไม่มีการพัฒนาเป็นยอดที่สมบูรณ์ได้ จึงไม่นับว่าชิ้นส่วนดังกล่าวเป็นยอด (ภาพที่ 16d 16e)

ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี TDZ ความเข้มข้นต่างๆ กัน ทั้งที่มีและไม่มีน้ำมะพร้าว พบว่า ชิ้นส่วนมีการปล่อยสารสีดำ ทำให้อาหารมีสีดำ

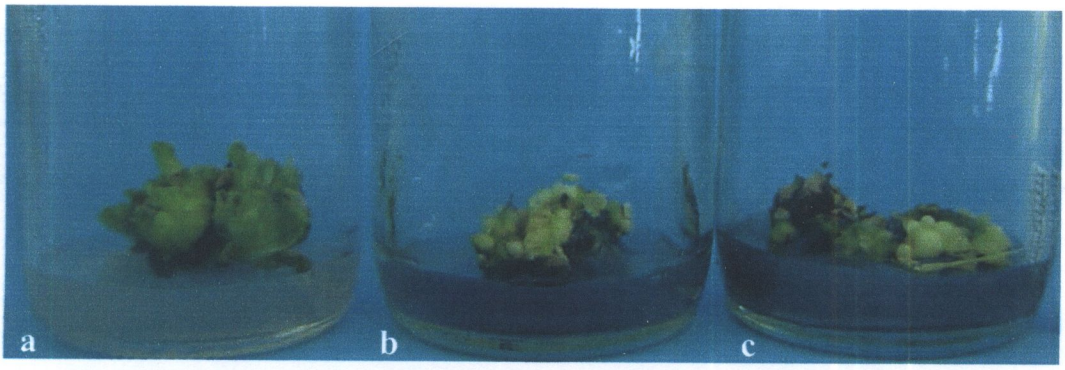
ภาพที่ 14 การเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเป็นตุ่มและยอดเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี TDZ 5 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์

Figure 14 Explant differentiation to clusters and shoots growing on MS medium containing 5 μM TDZ and coconut water 15% (v/v) for 3 weeks.



ภาพที่ 15 การพัฒนาของชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี TDZ 0.1 (a) 0.5 (b) 1 (c) 5 (d) และ 10 ไมโครโมลาร์ (e) และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

Figure 15 Explant development growing on MS medium containing 0.1 (a) 0.5 (b) 1 (c) 5 (d) and 10 μM TDZ (e) and coconut water 15% (v/v) for 6 weeks.



ภาพที่ 13 การพัฒนาของชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี TDZ 1 (a) 5 (b) และ 10 ไมโครโมลาร์ (c) เป็นเวลา 12 สัปดาห์

Figure 13 Explant development growing on MS medium containing 1 (a) 5 (b) and 10 μM TDZ (c) for 12 weeks.

3.4 อาหารสูตร MS ที่มี TDZ ความเข้มข้นต่างๆ และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์

ชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี TDZ 0.1 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว สัปดาห์ที่ 3 มีการพัฒนาเป็นยอดที่มีลักษณะปกติ ขณะที่ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี TDZ 0.5 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว มีการพัฒนาเป็นยอดที่มีลักษณะอวบและลำต้นสั้นกว่า และเกิดตุ่มเล็กๆ ที่ฐานของชิ้นส่วน สำหรับชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี TDZ 1 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว บางส่วนมีการพัฒนาเป็นยอดที่มีแผ่นใบอัดกันแน่น มีใบและลำต้นสั้น และบางส่วนมีการพัฒนาเป็นตุ่มเล็กๆ ด้วย ชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี TDZ 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว มีการพัฒนาเหมือนชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี TDZ 0.5 และ 1 ไมโครโมลาร์ เพียงแต่มีจำนวนยอดน้อยกว่า (ภาพที่ 14) สัปดาห์ที่ 6 ยอดกล้วยหินที่เกิดบนอาหารที่มี TDZ 0.1 และ 0.5 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว มีการเจริญเติบโต และมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้น (ภาพที่ 15a 15b) ส่วนยอดที่เกิดบนอาหารที่มี TDZ 1 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าวนั้น พบว่ายังไม่มีการเปลี่ยนแปลง (ภาพที่ 15c) ยอดที่เกิดบนอาหารที่มี TDZ 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว อาหารที่เลี้ยงมีสีดำ เนื่องจากมีการปล่อยสารสีดำ ซึ่งพบมากกว่าที่ความเข้มข้นอื่นๆ (ภาพที่ 15d 15e) สำหรับยอดที่เกิดบนอาหารที่มี TDZ 10 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว พบว่ายอดที่มีแผ่นใบอัดแน่น มีใบและลำต้นสั้น นั้นยังไม่มีการพัฒนาเป็นยอดที่สมบูรณ์ สัปดาห์ที่ 9 ยอดกล้วยหินที่เกิดบนอาหารที่มี TDZ 0.1 0.5 และ 1 ไมโครโมลาร์ และมีน้ำมะพร้าว มีการเพิ่มจำนวนขึ้นเล็กน้อย บนอาหารที่มี TDZ 5 และ 10 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว พบว่าต้นที่มีกลีบใบอัดแน่น มีใบและลำต้นสั้นนั้นยังคงไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆ ในสัปดาห์ที่ 12 ยอดกล้วยหินที่เกิดบนอาหารที่มี TDZ 0.1 0.5 และ 1 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว มีจำนวนคงที่ ส่วนตุ่มที่เกิดขึ้นบนอาหารที่มี TDZ 0.5 และ 1 ไมโครโมลาร์

ตารางที่ 4 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพิ่มจำนวนยอดกล้วยหิน

Table 4 Effect of plant growth regulators on shoot multiplication of 'Kluai Hin'

Media	Mean of shoots number ± SE
MS (control)	2.00 ± 0.218 ef
MS + 4.4 BA	5.44 ± 0.899 def
MS + 22 BA	15.30 ± 2.504 b
MS + 44 BA	21.22 ± 4.159 a
MS + 4.4 BA + 15% CW	3.75 ± 0.648 ef
MS + 22 BA + 15% CW	11.00 ± 2.950 bcd
MS + 44 BA + 15% CW	12.33 ± 3.648 bc
MS + 0.1 TDZ	7.00 ± 2.217 cde
MS + 0.5 TDZ	3.78 ± 0.909 ef
MS + 1 TDZ	2.10 ± 0.233 ef
MS + 5 TDZ	1.56 ± 0.176 ef
MS + 10 TDZ	2.40 ± 0.927 ef
MS + 0.1 TDZ + 15% CW	4.33 ± 0.707 ef
MS + 0.5 TDZ + 15% CW	7.33 ± 2.667 cde
MS + 1 TDZ + 15% CW	2.33 ± 0.715 ef
MS + 5 TDZ + 15% CW	0 ± 0.000 f
MS + 10 TDZ + 15% CW	0 ± 0.000 f
F-test	**

หมายเหตุ **แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

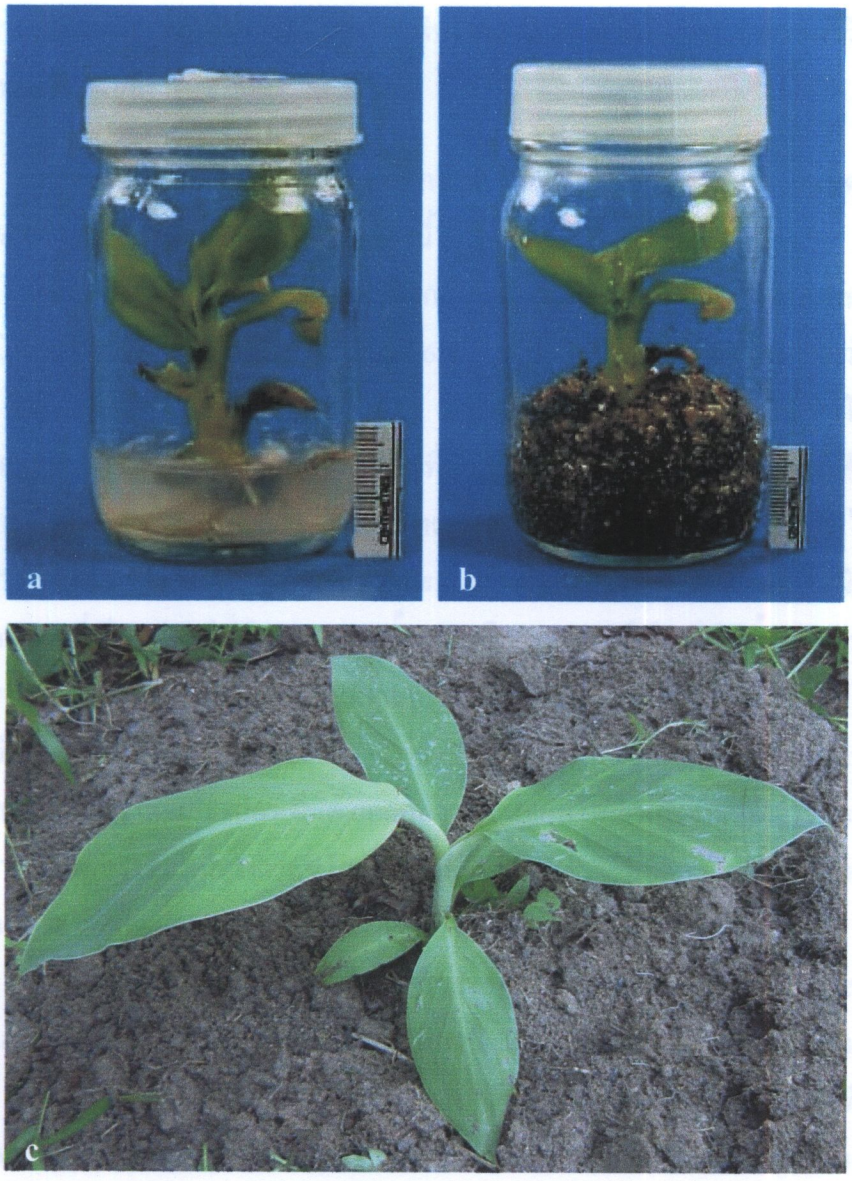
ค่าเฉลี่ยตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการเปรียบเทียบโดย DMRT ($p \leq 0.01$)

Note ** Highly significant different at the 99% confidence level.

Means followed by different letters in column are significantly different by DMRT ($p \leq 0.01$)

4. การชักนำรากและปรับสภาพต้นกล้วยหินที่ได้จากการเพิ่มจำนวนเพื่อปลูกลงดิน

เมื่อนำยอดกล้วยหินที่มีใบประมาณ 2-3 ใบ มาชักนำรากโดยเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต เป็นเวลา 3 สัปดาห์ มีการเปลี่ยนแปลงดังนี้ ยอดกล้วยมีรากสีขาวอวบงอกยืดยาวจากบริเวณโคนต้น และมีการแตกแขนง จำนวนรากโดยเฉลี่ยต้นละ 8 ราก ความยาวเฉลี่ย 3 เซนติเมตร ใบมีความกว้างและมีการแผ่มากขึ้น (ภาพที่ 17a) จากนั้นปรับสภาพต้นที่เกิดรากโดยนำมาล้างวุ้นให้สะอาด เพาะเลี้ยงในเวอร์มิคูไลต์ปลอดเชื้อ รดน้ำกลั่นพอชุ่มชื้น ปิดฝา แล้วทำการเก็บรักษาไว้ในห้องเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ (ภาพที่ 17b) และเปิดฝาเป็นเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นย้ายปลูกลงในกระถางที่มีดินผสมแกลบ เถ้า และขุยมะพร้าว วางเลี้ยงในสภาวะเดิมเป็นเวลา 2-3 วัน จึงย้ายลงแปลงปลูก จะได้ต้นกล้วยหินที่มีความแข็งแรง และเจริญเติบโตดี โดยมีความสูงประมาณ 0.5 เมตร เมื่อปลูกลงแปลงเป็นเวลา 2 เดือน (ภาพที่ 17c) ดังนั้นการชักนำรากของต้นกล้วยหินสามารถทำได้โดยเลี้ยงด้วยอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต และใช้เวลาในการปรับสภาพประมาณ 3 สัปดาห์



ภาพที่ 17 a) การเกิดรากของยอดกล้วยหินเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS เป็นเวลา 3 สัปดาห์ b) การปรับสภาพต้นกล้วยหินด้วยเวอร์มิคูไลต์ c) ต้นกล้วยหินหลังจากปลูกลงดินเป็นเวลา 2 เดือน

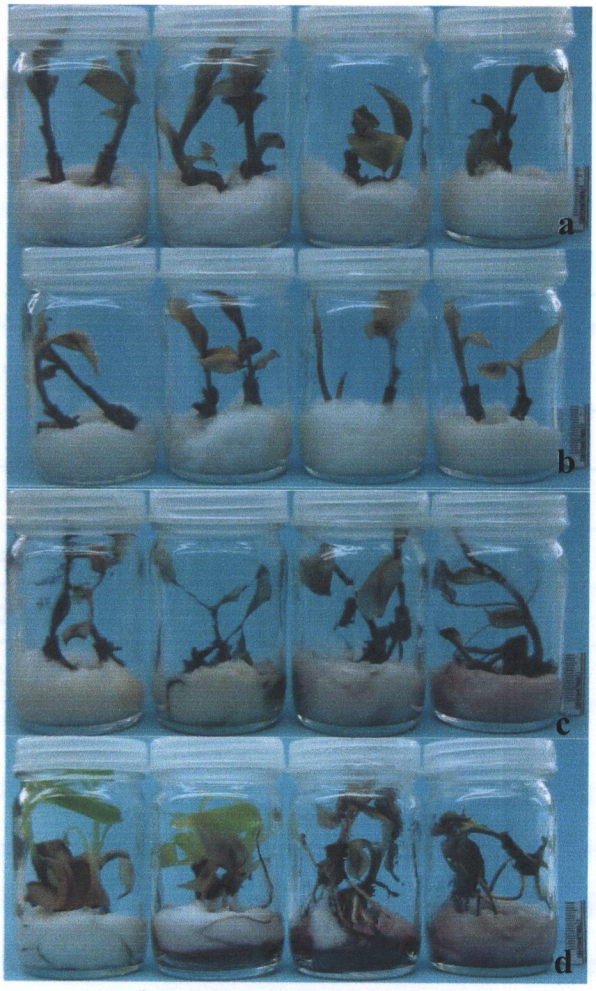
Figure 17 a) Rooted shoots cultured on MS medium for 3 weeks. b) Plantlet acclimatized with sterilized vermiculite. c) Two-month-old 'Kluai Hin' planted in soil.

5. สภาวะที่เหมาะสมต่อการชะลอการเจริญเติบโตของยอดกล้วยหิน และการรอดชีวิตหลังผ่านการชะลอการเจริญเติบโต

การชะลอการเจริญเติบโตของยอดกล้วยหินโดยใช้สารละลายน้ำตาลชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้นและสภาวะการเก็บต่างๆ กัน ได้ผลดังนี้

ยอดกล้วยหินที่เก็บบนสำลีที่มีน้ำกลั่น และสารละลายน้ำตาลซูโครสทุกความเข้มข้นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ให้แสง 0 และ 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 6 เดือน พบว่ามีสีเขียวออกน้ำตาล ไม่มีราก และไม่มีการปล่อยสารสีดำ แต่ยอดกล้วยหินที่ได้รับแสง 16 ชั่วโมงต่อวัน จะมีลำต้นและใบแห้ง (ภาพที่ 18a และ 18b) ยอดที่เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 0 ชั่วโมงต่อวัน บนสำลีที่มีน้ำกลั่น และที่สารละลายน้ำตาลซูโครส 1 เปอร์เซ็นต์ มีสีน้ำตาล ไม่มีราก มีการปล่อยสารสีดำเล็กน้อย แต่ยอดที่เก็บบนสารละลายน้ำตาลซูโครส 1 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีการปล่อยสารสีดำ ส่วนยอดที่เก็บบนสำลีที่มีสารละลายน้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ มีสีน้ำตาล มีราก และมีการปล่อยสารสีดำ (ภาพที่ 18c) ยอดที่เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน บนสำลีที่มีน้ำกลั่น มีสีเขียว ใบมีความยาวกว่าปกติ มีรากสั้นๆ และไม่มีการปล่อยสารสีดำที่สารละลายน้ำตาลซูโครส 1 เปอร์เซ็นต์ ยอดกล้วยหินมีขอบใบสีเหลือง มีรากยาว จำนวนมาก และปล่อยสารสีดำ ที่สารละลายน้ำตาลซูโครส 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ยอดกล้วยหินมีสีน้ำตาล มีรากยาว จำนวนมาก และปล่อยสารสีดำ (ภาพที่ 18d)

เมื่อย้ายยอดกล้วยหินที่ผ่านการเก็บรักษาบนสำลีที่มีสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้นและสภาวะการเก็บต่างๆ เป็นเวลา 6 เดือนไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกอัตราการรอดชีวิต โดยพิจารณาต้นกล้วยหินที่รอดชีวิตและสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ พบว่า ยอดกล้วยหินที่เก็บบนสำลีที่มีน้ำกลั่น และสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด คือ 25 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ยอดกล้วยที่เก็บบนสำลีที่มีสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น และสภาวะการเก็บอื่นๆ นั้น ไม่สามารถมีชีวิตรอดได้ (ตารางที่ 5)



ภาพที่ 18 ยอดกล้วยหินที่ผ่านการเก็บรักษาบนสำลีที่มีสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ (จากซ้ายไปขวา) ที่สภาวะอุณหภูมิต่างกันเป็นเวลา 6 เดือน (a) อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในที่มืด (b) อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน (c) อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในที่มืด (d) อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน

Figure 18 Shoot explant preserved with sucrose solution 0 1 3 and 5% (from left to right) with various conditions for 6 months (a) 4°C in darkness (b) 4°C 16 h photoperiod (c) 25°C in darkness and (d) 25°C 16 h photoperiod.

ตารางที่ 5 อัตราการรอดชีวิตของยอดกล้วยหินที่เก็บรักษาบนสำลีที่มีสารละลายน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 0 1 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ที่สภาวะต่างๆ เป็นเวลา 6 เดือน

Table 5 Survival rate of shoots preserved with sucrose solution 0 1 3 and 5% with various conditions for 6 months.

Preserved conditions (temperature; °C /photoperiod; h)	Survival (%) at different concentrations of sucrose (%)			
	0	1	3	5
4/0	0	0	0	0
4/16	0	0	0	0
25/0	0	0	0	0
25/16	25	25	0	0

ยอดกล้วยหินที่ผ่านการชะลอการเจริญเติบโตโดยเก็บรักษาบนสำลีที่มีสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น และสภาวะการเก็บต่างๆ กัน เป็นเวลา 6 เดือนได้ผลดังนี้

เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ให้แสง 0 ชั่วโมงต่อวัน ที่น้ำตาลกลูโคสทุกความเข้มข้น พบว่า ยอดกล้วยหินมีสีเขียวปนน้ำตาล ไม่มีราก และไม่มีการปล่อยสารสีดำ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ยอดกล้วยมีสีน้ำตาล ลำต้นและใบแห้ง ไม่มีราก และไม่มีการปล่อยสารสีดำ ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 0 ชั่วโมงต่อวัน บนสำลีที่มีสารละลายน้ำตาลกลูโคสทุกความเข้มข้น พบว่า ยอดกล้วยหินตายทั้งหมด โดยลำต้นและใบมีสีดำ ส่วนยอดกล้วยหินที่เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน บนสำลีที่มีสารละลายน้ำตาลกลูโคส 1 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ลำต้นและใบมีสีเขียว แต่ขอบใบมีสีเหลือง มีราก และมีการปล่อยสารสีดำ ส่วนยอดกล้วยหินที่เก็บบนสำลีที่มีสารละลายน้ำตาลกลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าลำต้นและใบมีสีเหลืองปนน้ำตาล มีราก และมีการปล่อยสารสีดำ

เมื่อย้ายยอดกล้วยหินที่ผ่านการเก็บรักษาบนสำลีที่มีสารละลายน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นและสภาวะการเก็บต่างๆ เป็นเวลา 6 เดือนไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกอัตราการรอดชีวิต โดยพิจารณายอดกล้วยหินที่รอดชีวิตและสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ พบว่า ยอดกล้วยหินทั้งหมดไม่สามารถรอดชีวิตได้

ยอดกล้วยหินที่ผ่านการชะลอการเจริญเติบโตโดยเก็บรักษาบนสำลีที่มีสารละลายน้ำตาลซอร์บิทอลที่ความเข้มข้น และสภาวะการเก็บต่างๆ กัน เป็นเวลา 3 เดือนได้ผลดังนี้

เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ให้แสง 0 และ 16 ชั่วโมงต่อวัน ทุกความเข้มข้นของน้ำตาลซอร์บิทอล พบว่ายอดกล้วยหินทั้งหมดไม่สามารถรอดชีวิตได้ และเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน บนสำลีที่มีสารละลายน้ำตาลซอร์บิทอล 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ยอดกล้วยหินส่วนหนึ่งมีลำต้นสีเหลือง ไม่มีใบ มีรากยาว จำนวนราก 1 - 2 รากต่อต้น และส่วนที่เหลือมีลำต้นสีเขียว มีการปล่อยสารสีดำเล็กน้อย ที่สารละลายน้ำตาลซอร์บิทอล 3 เปอร์เซ็นต์ ยอดกล้วยหินมีลำต้นสีเหลือง ไม่มีใบ ไม่ค่อยมีราก และไม่ปล่อยสารสีดำ ส่วนที่สารละลายน้ำตาลซอร์บิทอล 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ยอดกล้วยหินตายทั้งหมด รวมถึงที่สภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 0 ชั่วโมงต่อวันด้วย

เมื่อย้ายยอดกล้วยหินหลังจากเก็บรักษาบนสำลีที่มีสารละลายน้ำตาลซอร์บิทอลความเข้มข้น 1 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ที่สภาวะการเก็บอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือนไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกอัตราการรอดชีวิต โดยพิจารณายอดกล้วยหินที่รอดชีวิตและสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ พบว่า ยอดกล้วยหินไม่สามารถรอดชีวิตได้

จากผลการทดลองการเก็บรักษายอดกล้วยหินโดยใช้สารละลายน้ำตาลชนิด ความเข้มข้น และสภาวะการเก็บต่างๆ พบว่า ยอดกล้วยหินที่เก็บรักษาโดยใช้น้ำกลั่น และสารละลายน้ำตาลซูโครส 1 เปอร์เซ็นต์ ที่สภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน มีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุด 25 เปอร์เซ็นต์ และสามารถเก็บรักษาได้เป็นเวลา 6 เดือน ส่วนน้ำตาล และสภาวะอื่นๆ ที่ทดลอง ไม่สามารถเก็บรักษายอดกล้วยหินให้มีชีวิตรอดได้ และเมื่อนำยอดกล้วยหินที่รอดชีวิตจากการเก็บรักษาบนสำลีที่มีน้ำกลั่น และสารละลายน้ำตาลซูโครส 1 เปอร์เซ็นต์ ที่สภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 6 เดือน ปลูกลงกระถาง พบว่า ต้นกล้วยหินมีสภาพแข็งแรงและเจริญเติบโตได้ดี (ภาพที่ 19)

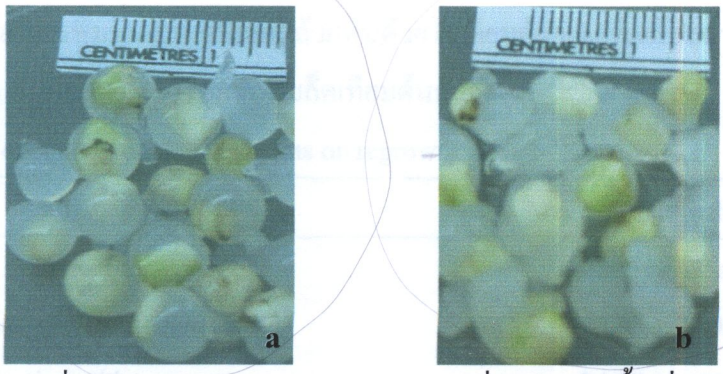
ภาพที่ 19 ต้นกล้วยหินที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน

Figure 19 'Kluai Hin' developed from shoot preserved for 6 months.

6. สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตและเก็บเมล็ดเทียม การเจริญเติบโตของต้นกล้วยหินที่เกิดจากเมล็ดเทียม

6.1 การผลิตเมล็ดเทียม

จากการทดลองผลิตเมล็ดเทียมในเบื้องต้นโดยใช้สารละลายโซเดียมอัลจิเนตความเข้ม-ข้น 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่เตรียมด้วยน้ำกลั่นหรืออาหารเหลวสูตร MS ปลอดเชื้อ ร่วมกับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ พบว่า เมล็ดเทียมที่ผลิตจากสารละลายโซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ไม่แข็งแรง แตกง่าย ส่วนเมล็ดเทียมที่ใช้สารละลายโซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ แข็งแรง ไม่แตกง่าย ลักษณะของเมล็ดเทียมที่ผลิตจากโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยอาหารเหลวสูตร MS มีรูปร่างผิดปกติ คือ บิดเบี้ยว ขุ่น ส่วนเมล็ดเทียมที่ผลิตด้วยโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อมีลักษณะกลม เป็นรูปแบบเดียวกัน และใส ดังภาพที่ 20



ภาพที่ 20 เมล็ดเทียมที่ผลิตด้วยสารละลายโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยน้ำกลั่น (a) และอาหารเหลวสูตร MS (b)

Figure 20 Artificial seeds encapsulated with sodium alginate prepared with distilled water (a) and MS liquid medium (b)

เมื่อนำชิ้นส่วนตายอดที่ไม่หุ้มหรือหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนต 3 เปอร์เซ็นต์ที่เตรียมด้วยน้ำกลั่นหรืออาหารเหลวสูตร MS ปลอดเชื้อมาชักนำให้เกิดต้นบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 15 วัน พบว่าอัตราการงอกเป็นต้นของชิ้นส่วนตายอดที่หุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยอาหารเหลวสูตร MS มีค่ามากที่สุด 73.33 เปอร์เซ็นต์ โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชิ้นส่วนตายอดที่หุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยน้ำกลั่น แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชิ้นส่วนที่ไม่หุ้ม (ตารางที่ 6) โดยเมล็ดเทียมที่สามารถงอกเป็นต้นได้นั้น มีการเปลี่ยนแปลงจากชิ้นส่วนสีเขียวซึ่งเกิดยอดและบางชิ้นส่วนยังเกิดรากได้ด้วย สำหรับเมล็ดเทียมที่ไม่สามารถงอกเป็นต้นได้นั้น พบว่าจะมีการเปลี่ยนแปลงจากชิ้นส่วนสีเขียวเป็นสีเหลือง สีน้ำตาล และตายในที่สุด ดังนั้นโซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ที่เตรียมด้วยอาหารเหลวสูตร MS เหมาะสำหรับการผลิตเมล็ดเทียมของชิ้นส่วนตายอดต้นกล้วยหิน

6.2 ระยะเวลาในการเก็บเมล็ดเทียม

เมล็ดเทียมที่เก็บรักษาบนสำลีที่ให้ความชื้นด้วยอาหารเหลวสูตร ¼MS ที่สภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในที่มืด เป็นเวลา 0 15 และ 30 วัน จากนั้นนำมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 15 วัน พบว่า อัตราการรอดชีวิตของเมล็ดเทียมลดลงเมื่อเวลาในการเก็บเพิ่มขึ้น โดยเมล็ดเทียมที่เก็บเป็นเวลา 0 วัน ให้อัตราการเกิดต้นสูงที่สุด 86.67 เปอร์เซ็นต์ โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับเมล็ดเทียมที่เก็บเป็นเวลา 15 และ 30 วัน (ตารางที่ 7) แม้ว่าการเก็บรักษาเมล็ดเทียมกล้วยหินระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นจะทำให้อัตราการรอดชีวิตลดลง แต่มีความสะดวกและประหยัดในกรณีที่ต้องมีการขนส่งหรือแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนพืช

ตารางที่ 6 ผลของการหุ้มชิ้นส่วนตายอดกล้วยหินด้วยโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยตัวทำละลายต่างๆ กันต่ออัตราการงอกของเมล็ดเทียมต้นกล้วยหิน

Table 6 Effect of coating of shoot explants on regrowth rate of 'Kluai Hin.'

Coating	Mean of regrowth ± SE
Uncoating	50.00 ± 9.85ab
Coating with medium	73.33 ± 7.49a
Coating with water	34.17 ± 8.55b
F-test	**

หมายเหตุ **แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการเปรียบเทียบโดย DMRT ($p \leq 0.01$)

Note ** Highly significant different at the 99% confidence level.

Means followed by different letters in column are significantly different by DMRT ($p \leq 0.01$)

ตารางที่ 7 ผลของระยะเวลาในการเก็บต่ออัตราการงอกของเมล็ดเทียมต้นกล้วยหิน

Table 7 Effect of storage duration on regrowth rate of artificial seeds of 'Kluai Hin.'

Storage duration (days)	Mean of regrowth ± SE
0	86.67 ± 4.91a
15	49.17 ± 9.17b
30	21.67 ± 7.70c
F-test	**

หมายเหตุ **แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการเปรียบเทียบโดย DMRT ($p \leq 0.01$)

Note ** Significant different at the 99% confidence level.

Means followed by different letters in column are significantly different by DMRT ($p \leq 0.01$)

6.3 สภาวะในการเก็บเมล็ดเทียม

เมล็ดเทียมที่เก็บในที่มืดหรือสว่างบนสำลีที่ให้ความชื้นด้วยอาหารเหลวสูตร ¼MS จากนั้นนำมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 15 วัน พบว่าอัตราการรอดชีวิตของเมล็ดเทียมที่เก็บในที่มืดมีค่าสูงกว่าเมล็ดเทียมที่เก็บในที่สว่าง แต่ทั้งสองค่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 8) ดังนั้นการเก็บรักษาเมล็ดเทียมไม่ว่าในสภาวะที่มืดหรือสว่างไม่มีผลต่ออัตราการงอกของเมล็ดเทียมต้นกล้วยหิน

ตารางที่ 8 ผลของสภาวะในการเก็บต่ออัตราการงอกของเมล็ดเทียมกล้วยหิน

Table 8 Effect of storage conditions on regrowth rate of artificial seeds of 'Kluai Hin.'

Storage conditions	Mean of Regrowth ± SE
Dark	53.33 ± 7.39
Light	51.67 ± 7.70
F-test	ns

หมายเหตุ ns = ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

Note ns = non significant

6.4 ผลของกรดแอบซิสซิคต่ออัตราการเกิดเป็นต้นของเมล็ดเทียมต้นกล้วยหิน

ชิ้นส่วนตายอดที่แช่หรือไม่แช่ในสารละลายกรดแอบซิสซิคความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นหุ้มด้วยสารละลายโซเดียมอัลจิเนต แล้วนำมาเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 15 วัน พบว่าอัตราการงอกของเมล็ดเทียมที่แช่ในสารละลายกรดแอบซิสซิคมีค่าต่ำกว่าชิ้นส่วนที่ไม่แช่ในสารละลายกรดแอบซิสซิค โดยทั้งสองค่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 9) ทั้งนี้ เมื่อเปรียบเทียบชิ้นส่วนที่ไม่ได้หุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตและไม่ได้รับกรดแอบซิสซิค พบว่า จะมีอัตราการงอกสูงกว่าชิ้นส่วนที่ได้รับกรดแอบซิสซิค และเมื่อเปรียบเทียบชิ้นส่วนที่หุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยอาหารเหลวสูตร MS ที่ได้และไม่ได้รับกรดแอบซิสซิคมีอัตราการงอกไม่แตกต่างกัน ส่วนชิ้นส่วนที่หุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยน้ำกลั่นที่ได้และไม่ได้รับกรดแอบซิสซิคมีการงอกไม่แตกต่างกัน แต่มีค่าต่ำกว่าชิ้นส่วนที่หุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตซึ่งเตรียมด้วยอาหารเหลวสูตร MS และยังพบว่าเมล็ดเทียมที่ไม่ผ่านการเก็บรักษาที่ไม่หุ้มและหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยน้ำกลั่น หรืออาหารเหลวสูตร

MS มีอัตราการงอกเป็นต้นไม่แตกต่างกัน ดังนั้นกรดแอบซิสซิคความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้อัตราการงอกของเมล็ดเทียมต้นกล้วยหินลดลง

ตารางที่ 9 ผลของกรดแอบซิสซิคต่ออัตราการงอกของเมล็ดเทียมกล้วยหิน

Table 9 Effect of ABA on survival of artificial seeds of 'Kluai Hin.'

ABA	Mean of Regrowth ± SE
+	39.44 ± 7.37b
-	65.56 ± 7.06a
F-test	*

หมายเหตุ *แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ค่าเฉลี่ยตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการเปรียบเทียบโดย DMRT ($p \leq 0.05$)

Note * Significant different at the 95% confidence level.

Means followed by different letters in column are significantly different by DMRT ($p \leq 0.05$)

6.5 วัสดุที่ใช้ชักนำต้นให้เกิดจากเมล็ดเทียม

เมื่อนำเมล็ดเทียมมาชักนำให้เกิดต้นบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ หรือเวอร์มิคูไลต์ผสมดินอัตราส่วน 1 : 1 เป็นเวลา 15 วัน พบว่าเมล็ดเทียมที่เลี้ยงบนเวอร์มิคูไลต์ผสมดินไม่สามารถงอกเป็นต้นได้ไม่ว่าจะเตรียมด้วยน้ำกลั่นหรืออาหารเหลวสูตร MS โดยเมล็ดเทียมเหล่านี้จะมีสีดำและแห้งตายไปในที่สุด แต่เมล็ดเทียมที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ สามารถงอกเป็นยอด (ภาพที่ 21) และมีบางยอดสามารถเกิดรากได้ ดังนั้นวัสดุที่สามารถชักนำต้นจากเมล็ดเทียมต้นกล้วยหินได้คือ อาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ ส่วนเวอร์มิคูไลต์ผสมดินไม่สามารถใช้เป็นวัสดุปลูกสำหรับชักนำต้นจากเมล็ดเทียมของกล้วยหินได้

ภาพที่ 21 เมล็ดเทียมที่มีการงอกเป็นต้นหลังจากเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์เป็นเวลา 15 วัน

Figure 21 Regrowth of encapsulated shoot tip of 'Kluai Hin' after cultured on MS medium with 22 µM BA for 15 days.

บทที่ 4

บทวิจารณ์

1. ชิ้นส่วนเริ่มต้นสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้นกล้วยหิน

จากการทดลองเลี้ยงชิ้นส่วนต่างๆ ได้แก่ ตายอด ตาข้าง และปลี เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้น เพื่อชักนำให้เกิดต้นโดยใช้อาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ พบว่า เนื้อเยื่อมีการขยายขนาดเพิ่มขึ้นและสามารถชักนำให้เกิดต้นได้โดยที่ตายอดและตาข้างมีการพัฒนาเป็นต้นได้ภายใน 49 วัน ส่วนปลีเกิดต้นเมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 84 วัน ทั้งนี้เนื่องจาก BA และน้ำมะพร้าวมีสารต่างๆ เช่น Myo-inositol 1-3-Diphenylurea และ Leucoanthocyanin มีความสามารถในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์และการเกิดตา (กัลยาณี อรรถฉัตร และคณะ, 2533) แต่ตายอดและตาข้างใช้เวลาในการเกิดต้นน้อยกว่าปลี ดังนั้นชิ้นส่วนตายอดและตาข้างจึงมีความเหมาะสมที่จะใช้เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยหิน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kanchanapoom และ Chanadang (2000) ทดลองชักนำต้นจากส่วนต่างๆ ได้แก่ ตายอด ตาข้าง และปลี ของกล้วยหอมทอง (*Musa acuminata* 'Kluai Hom Thong') โดยใช้อาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ตายอดและตาข้างเกิดต้นหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 42 วัน ส่วนปลีเกิดต้นหลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 7 เดือน นอกจากนี้งานวิจัยของ Silayoi (2001) ซึ่งทดลองชักนำต้นจากส่วนตายอด และปลีของกล้วยไข่ (*Musa acuminata* 'Kluai Khai') โดยใช้อาหารเหลวและอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลวสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ พบว่า ชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลวเกิดต้นเมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน และ 45 วัน เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว ส่วนปลีที่เลี้ยงด้วยอาหารเหลวใช้เวลาในการเกิดต้น 52 วันและ 130 วันสำหรับอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว และงานวิจัยของ Swamy และ Sahijram (1989) ทดลองชักนำต้นจากส่วนปลีของกล้วย 3 พันธุ์ ได้แก่ 'Chandrabale' 'Rasthali' และ 'Robusta' โดยเลี้ยงด้วยอาหารเหลวสูตร MS ที่เติมอะดินินซัลเฟต 160 มิลลิกรัมต่อลิตร BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 เดือน จากนั้นย้ายเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มออกซินและไซโทไคนินในระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า ปลีมีการพัฒนาเป็นต้นได้ภายในเวลา 56 - 70 วัน

ชิ้นส่วนที่เลี้ยงในระยะแรกมีการปล่อยสารสีดำซึ่งเป็นสารประกอบฟีโนลิก สอดคล้องกับรายงานของ Chinsuk และ Silayoi (2001) Kanchanapoom และ Chanadang (2000) และ รายงานของ Jarret และคณะ (1985) โดยสารประกอบฟีโนลิกมักเกิดขึ้นเมื่อพืชเกิดบาดแผล และมีผลยับยั้ง

การเจริญเติบโตของพืช การแบ่งเซลล์และการเพิ่มขนาดของเซลล์ก็ถูกยับยั้งด้วย (Noggle, 1983) แต่ปัญหาเหล่านี้สามารถแก้ไขได้โดยการย้ายเลี้ยงสู่อาหารใหม่ทุกๆ 3 สัปดาห์ ทั้งนี้ Fett-Neto และคณะ (1992) (อ้างโดย Zhong, 1995) รายงานว่า การปล่อยสารสีดำหรือสารประกอบฟีโนลิกสู่อาหารเป็นปัจจัยสำคัญที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของแคลลัสของ *Taxus* การเติมสารลดหรือสารดูดซับฟีนอลในอาหาร เช่น Polyvinylpolypyrrolidone (PVP) สามารถลดปัญหาดังกล่าวได้

2. การวางเลี้ยงชิ้นส่วนตายอดต้นกล้วยหินแบบต่างๆ

จากผลการทดลอง จะพบว่าชิ้นส่วนตายอดที่มีการวางเลี้ยงให้ส่วนที่ผ่าสัมผัสกับอาหารจะให้จำนวนต้นมากกว่าชิ้นส่วนที่วางเลี้ยงให้ส่วนที่ผ่าไม่สัมผัสกับอาหาร โดยที่ชิ้นส่วนตายอดที่วางต้นในแนวตะแคง ให้จำนวนต้นมากที่สุด จะเห็นได้ว่าการสัมผัสกับอาหารของส่วนที่ผ่ามีผลดีต่อการเพิ่มจำนวนของต้นกล้วยหิน ในแง่ของการดูดซึมธาตุอาหารไปใช้ในการพัฒนาของเนื้อเยื่อได้ดีกว่าเมื่อส่วนที่ผ่าไม่ได้สัมผัสโดยตรงกับอาหาร และผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับ Kanchanapoom และ Iampinit (2002) โดยพบว่าการวางเลี้ยงอับเรณูของมะละกอ (*Carica papaya* L.) ให้ผิวหน้าสัมผัสกับอาหารมีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสสูงสุด และสอดคล้องกับการทดลองของ Mercy และ Zapata (1987) ซึ่งศึกษาอิทธิพลของการวางเลี้ยงอับเรณูต่อการเกิดแคลลัสของข้าว (*Oryza sativa* var. Taipei 309) พบว่า การวางเลี้ยงแบบตะแคงโดยขอบด้านหนึ่งสัมผัสกับอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลวสูตร B5 (Gamborg *et al.*, 1968) ให้ผลการเกิดแคลลัสดีที่สุด โดยสรุปไว้ว่าการตอบสนองต่อการวางเลี้ยงชิ้นส่วนแบบต่างๆ ขึ้นอยู่กับชนิดของพืชด้วย นอก จากนี้ยังสอดคล้องกับการรายงานของ Hunter (1985) ว่าการวางเลี้ยงอับเรณูของข้าวบาร์เลย์ (*Hordeum vulgare* cv. Sabarlis) ในแนวตะแคงโดยให้ขอบด้านหนึ่งสัมผัสกับอาหารแข็งสูตร MS เท่านั้นที่พบว่ามีการพัฒนาของเอ็มบริออยด์เกิดขึ้น แต่ขัดแย้งกับการทดลองของ Arnison และคณะ (1990) รายงานว่าอับเรณูของบร็อคโคลี (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) ที่วางเลี้ยงโดยผิวหน้าไม่สัมผัสกับอาหารมีเปอร์เซ็นต์การเกิดเอ็มบริโอดีกว่าการวางเลี้ยงที่ให้ผิวหน้าสัมผัสกับอาหาร

3. สูตรอาหารเพาะเลี้ยงสำหรับการเพิ่มจำนวนยอดกล้วยหิน

จากการทดลองศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนยอดกล้วยหิน พบว่าชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 44 ไมโครโมลาร์ มีการเพิ่มจำนวนยอดได้มากที่สุด สอดคล้องกับการรายงานของ Chinsuk และ Silayoi (2001) ว่า BA ความเข้มข้นสูงทำให้เกิดยอดได้ดีกว่าเนื่องจากการแบ่งเซลล์ที่มากขึ้นตามความเข้มข้นของ BA แต่ขัดแย้งกับรายงานของ Kanchanapoom และ Chanadang (2000) ซึ่งทดลองเพิ่มจำนวนยอดกล้วยหอมทอง พบว่า

อาหารสูตร MS ที่มี BA 44 ไมโครโมลาร์ ยับยั้งการเกิดตายอดและความสูงของยอด และงานวิจัยของ Wong (1986) รายงานว่าอัตราการเพิ่มจำนวนยอดลดลงเมื่อความเข้มข้นของไซโทไคนินเพิ่มขึ้นจาก 44 เป็น 66 ไมโครโมลาร์ ยกเว้นกล้วยพันธุ์ 'Mysore' มีการเพิ่มจำนวนยอดมากที่สุดที่ BA ความเข้มข้น 66 ไมโครโมลาร์

เมื่อมีการใช้น้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับ BA พบว่า ชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มีน้ำมะพร้าวร่วมกับ BA มีจำนวนยอดสูงสุด โดยมีขนาดยอดใหญ่กว่าแต่จำนวนยอดน้อยกว่าเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่มีน้ำมะพร้าวร่วมกับ BA ความเข้มข้นเดียวกันซึ่งขัดแย้งกับงานวิจัยของ Kanchanapoom และ Chanadang (2000) ที่รายงานว่าการใช้ BA ร่วมกับน้ำมะพร้าวให้ผลดีกว่าการใช้ BA อย่างเดียว ทั้งนี้ Wong (1986) รายงานว่าพืชต่างพันธุ์กันมีการตอบสนองต่อไซโทไคนินต่างกัน

จากการทดลองเลี้ยงชิ้นส่วนบนอาหารสูตร MS ที่มี TDZ ความเข้มข้นต่างๆ ที่มีและไม่มีน้ำมะพร้าว พบว่า เมื่อความเข้มข้น TDZ เพิ่มขึ้นจาก 0.5 ถึง 10 ไมโครโมลาร์ ต้นกล้วยมีการพัฒนาผิดปกติ โดยมีลำต้นและใบสั้นอัดกันแน่น ซึ่งมีลำต้นสั้นและใบเพิ่มมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของ TDZ สูงขึ้น และเกิดตุ่มเล็กๆ ขึ้นที่บริเวณฐานของชิ้นส่วน โดยจำนวนตุ่มจะมากขึ้นตามความเข้มข้นของ TDZ สอดคล้องกับการทดลองของ Kanchanapoom และ Chanadang (2000) รายงานว่า TDZ ที่ความเข้มข้นต่ำให้ผลดีกว่าที่ความเข้มข้นสูง โดยการเพิ่มความเข้มข้นของ TDZ ทำให้จำนวนยอดลดลงและขัดขวางการยืดตัวของลำต้นด้วย นอกจากนี้ Kadota และคณะ (2001) ศึกษาการเพิ่มจำนวนยอดของ Japanese pear พบว่าอาหารสูตร MS ที่มี BA 44 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนยอดสูงสุด ในขณะที่อาหารสูตร MS ที่มี TDZ 0.454 และ 4.54 ไมโครโมลาร์ ไม่มีผลในการกระตุ้นการเพิ่มจำนวนยอด นอกจากนี้ Huetteman และ Preece (1993) รายงานว่า TDZ ความเข้มข้นต่ำ (น้อยกว่า 1 ไมโครโมลาร์) สามารถชักนำให้มีการเพิ่มจำนวนยอดได้ดีกว่าไซโทไคนินชนิดอื่นๆ แต่จะยับยั้งการยืดยาวของต้น และบางกรณีเกิดเป็นปุ่มปมได้ โดยอาจเกิดจากกลุ่มฟีนิลของ TDZ แต่สามารถแก้ไขปัญหานี้ได้โดยการย้ายต้นไปเลี้ยงบนอาหารที่มีระดับ TDZ ต่ำหรือไซโทไคนินอื่นที่มีประสิทธิภาพต่ำกว่า แต่จากการทดลองในกล้วยหินพบว่าเมื่อย้ายชิ้นส่วนที่เกิดตุ่มไปยังอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และ MS ที่มี BA 4.4 และ 22 ไมโครโมลาร์ พบว่าตุ่มที่เกิดขึ้นไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆ (ไม่แสดงข้อมูล) และพบว่าเมื่อระดับความเข้มข้นของ TDZ เพิ่มขึ้น ทำให้ระดับการปล่อยสารสีดำเพิ่มขึ้นด้วย

4. การชักนำรากและปรับสภาพต้นกล้วยหินที่ได้จากการเพิ่มจำนวนเพื่อปลูกลงดิน

จากการทดลองชักนำรากต้นกล้วยหินที่มีใบเกิดขึ้นประมาณ 2-3 ใบ โดยเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช พบว่าต้นกล้วยหินเกิดรากภายใน

เวลา 3 สัปดาห์ โดยมีจำนวนรากโดยเฉลี่ย 8 รากต่อต้น ความยาวรากโดยเฉลี่ย 3 เซนติเมตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chinsuk และ Silayoi (2001) รายงานว่าอาหารที่ไม่มี BA ชักนำให้เกิดรากได้ และสอดคล้องกับการทดลองของ Wong (1986) ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากล้วยสามารถเกิดรากได้โดยไม่ต้องเติมออกซินในอาหารที่เลี้ยง เนื่องจากที่ปลายยอดมีการสังเคราะห์สารออกซินและมีการส่งไปยังส่วนอื่นๆ ของต้นได้ นอกจากนี้ Jarret และคณะ (1985) รายงานว่าสามารถชักนำรากต้นกล้วยกล้ายพันธุ์ 'Saba' และ 'Pelipita' ได้หลังจากเลี้ยงด้วยอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 2 สัปดาห์ แต่เมื่อชักนำด้วยอาหารสูตร MS ที่มีผงถ่าน 0.1 หรือ 1.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่าไม่มีการเกิดรากและยังยับยั้งการพัฒนาของต้นอีกด้วย ในขณะที่ Hwang และคณะ (1984) ชักนำรากต้นกล้วย 'Cavendish' ได้หลังจากเลี้ยงด้วยอาหารสูตร Smith และ Murashige ที่มีผงถ่าน 1 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 สัปดาห์ โดยเกิดรากจำนวนมาก มีความยาวเฉลี่ย 5-8 เซนติเมตร และ Vuylsteke และ Ortiz (1996) รายงานว่าใช้เวลาในการชักนำรากนานถึง 2-3 เดือน เมื่อเลี้ยงต้นกล้วยกล้ายพันธุ์ 'Agbagba' ด้วยอาหารสูตร MS ที่มี NAA 0.19 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0.23 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดรากมีความยาวโดยเฉลี่ย 1 - 4 เซนติเมตร จะเห็นว่าความสามารถในการเกิดรากขึ้นอยู่กับพันธุ์ของกล้วย โดยที่กล้วยบางพันธุ์จำเป็นจะต้องได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโตช่วยในการชักนำราก แต่สำหรับกล้วยหินสามารถเกิดรากได้เองโดยไม่จำเป็นต้องเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินในอาหารที่เลี้ยง

จากการทดลองปรับสภาพต้นกล้วยหินหลังจากเกิดรากโดยนำต้นที่ได้มาล้างวุ้นให้สะอาด เพาะเลี้ยงในเวอร์มิคูไลต์ปลอดเชื้อ รดน้ำกลั่นพอชุ่มชื้น ปิดฝา แล้วเก็บรักษาไว้ในห้องเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นเปิดฝาเป็นเวลา 1 สัปดาห์ จึงย้ายลงในกระถางที่มีดินผสมแกลบเถ้าและขุยมะพร้าว วางเลี้ยงในสภาวะเดิมเป็นเวลา 2-3 วัน จึงย้ายลงแปลงปลูก พบว่าต้นกล้วยหินมีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ มีความแข็งแรง และเจริญเติบโตได้ดี โดยมีความสูงประมาณ 0.5 เมตร เมื่อปลูกลงแปลงเป็นเวลา 2 เดือน ดังนั้นวิธีนี้มีความเหมาะสมที่จะใช้ในการปรับสภาพกล้วยหิน ซึ่งสอดคล้องกับการปรับสภาพต้นกล้วยหอมทองที่รายงานโดย Kanchanapoom และ Chanadang (2000) โดยปรับสภาพต้นกล้วยในเวอร์มิคูไลต์เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นย้ายลงกระถางที่มีดินผสมปุ๋ยคอก พบว่าต้นกล้วยมีอัตราการรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์เมื่อปลูกลงแปลง นอกจากนี้ยังมีวิธีการปรับสภาพต้นกล้วยประเภท 'Cavendish' โดย Hwang และคณะ (1984) รายงานว่าก่อนปลูกลงดิน จุ่มต้นกล้วยลงใน Dithane M-45 0.3 เปอร์เซ็นต์ และปลูกในกระถางที่มีส่วนผสมของเวอร์มิคูไลต์ 60 เปอร์เซ็นต์ ทราย 30 เปอร์เซ็นต์ และปุ๋ยอินทรีย์ 10 เปอร์เซ็นต์ และให้ปุ๋ย Nutricote (14N-14P-14K) เป็นเวลา 2 - 3 เดือน ก่อนปลูกลงแปลง

5. สภาวะที่เหมาะสมต่อการชะลอการเจริญเติบโตของยอดกล้วยหิน และการรอดชีวิตหลังผ่านการชะลอการเจริญเติบโต

ยอดกล้วยหินที่เก็บบนสำลีที่มีน้ำกลั่นและสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 6 เดือนที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน พบว่ามีอัตราการรอดชีวิต 25 เปอร์เซ็นต์ เมื่อย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA 44 ไมโครโมลาร์ ในขณะที่การเก็บที่สภาวะ และสารละลายน้ำตาลชนิดอื่น ๆ ยอดกล้วยหินไม่สามารถรอดชีวิตได้ ทั้งนี้การที่ยอดกล้วยหินไม่สามารถรอดชีวิตได้นั้นอาจเนื่องจากน้ำตาลกลูโคสและซอร์บิทอลไม่เหมาะสมต่อการเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับกล้วยหิน โดย Mezzetti และคณะ (1991) รายงานว่า ความเหมาะสมของน้ำตาลแต่ละชนิดที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขึ้นอยู่กับความสามารถของเนื้อเยื่อในการใช้คาร์โบไฮเดรต ชิ้นส่วนของพืช เช่น ยอด ราก แคลลัส และเซลล์ นอกจากนี้ความสามารถในการดูดซับและเผาผลาญโมเลกุลของแหล่งคาร์บอนที่มีความจำเพาะกับพืชแต่ละชนิด โดยจากการทดลองนี้พบว่า น้ำตาลซูโครสมีความเหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยหิน และ Garcia และคณะ (2002) รายงานว่าโดยปกติซูโครสเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ถูกเลือกเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช อาจเป็นเพราะซูโครสเป็นน้ำตาลตัวหลักที่มีการลำเลียงในพืชหลายชนิด นอกจากนี้ Marino และคณะ (1993) รายงานว่า ซูโครสมีประสิทธิภาพในการชักนำราก เพิ่มอัตราการรอดชีวิตของ Apricot ได้มากกว่าซอร์บิทอล แต่มีประสิทธิภาพต่ำกว่าในการเพิ่มจำนวนต้น Welander และคณะ (1989) รายงานว่า คาร์โบไฮเดรตมีอิทธิพลต่ออัตราความมีชีวิตของชิ้นส่วนโดยชนิดของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดของพืช เช่น แมนนิทอล และซูโครสเหมาะสำหรับเป็นแหล่งคาร์บอนของ *Syringa* กลูโคสเหมาะสำหรับเป็นแหล่งคาร์บอนของ *Alnus* ส่วนซอร์บิทอลและฟรุกโทสเหมาะสำหรับเป็นแหล่งคาร์บอนของ *Malus* เป็นต้น

6. สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตและเก็บเมล็ดเทียม การเจริญเติบโตของต้นกล้วยหินที่เกิดจากเมล็ดเทียม

6.1 การผลิตเมล็ดเทียม

จากผลการทดลองผลิตเมล็ดเทียมจากโซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ที่เตรียมด้วยน้ำกลั่นและอาหารเหลวสูตร MS พบว่าได้เมล็ดเทียมที่ไม่แข็งแรง แตกง่าย ส่วนเมล็ดเทียมที่ใช้สารละลายโซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ พบว่าได้เมล็ดเทียมที่แข็งแรง ทนต่อการแตก สอดคล้องกับรายงานของ Ballester และคณะ (1997) ซึ่งทดลองผลิตเมล็ดเทียมของ *Camellia japonica* พบว่าการใช้สารละลายโซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์จะได้เมล็ด

เทียมที่มีลักษณะแข็งแรง ทนต่อการแตก ใส และกลม นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการรายงานของ Soneji และคณะ (2002) ซึ่งผลิตเมล็ดเทียมของสับปะรด (*Ananas comosus* L.) ด้วยโซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้นต่างๆ กัน พบว่า เมล็ดเทียมที่ผลิตจากโซเดียมอัลจิเนต 3 เปอร์เซ็นต์ที่เตรียมด้วยอาหารเหลวสูตร MS มีความแข็งแรง โดยยอดสามารถงอกได้ และมีอัตราการงอกสูงกว่าเมล็ดเทียมที่ผลิตจากโซเดียมอัลจิเนต 4 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเมล็ดเทียมที่ได้มีความแข็งเกินกว่าที่ยอดจะงอกออกมาได้ แต่ขัดแย้งกับ Pattnaik และคณะ (1995) ซึ่งรายงานว่าเมล็ดเทียมที่ผลิตด้วยสารละลายโซเดียมอัลจิเนต 1-3 เปอร์เซ็นต์จะได้เมล็ดเทียมที่มีความนิ่มและไม่ได้รูป เนื่องจากความสามารถในการเป็นเจลลดลงหลังจากได้รับความร้อนระหว่างกระบวนการทำให้ปลอดเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งอัดไอ

ลักษณะของเมล็ดเทียมที่ผลิตจากโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยอาหารเหลวสูตร MS มีรูปร่างผิดปกติ คือ บิดเบี้ยว ขุ่น ส่วนเมล็ดเทียมที่ผลิตด้วยโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อมีลักษณะกลม เป็นรูปแบบเดียวกัน และใส สอดคล้องกับรายงานของ Piccioni และ Standardi (1995) ซึ่งทดลองผลิตเมล็ดเทียมของไม้ยืนต้น 6 ชนิด พบว่าเมล็ดเทียมที่ผลิตจากโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยอาหารเหลวสูตร MS จะแตกง่ายและมีรูปร่างผิดปกติ ส่วนเมล็ดเทียมที่ผลิตด้วยโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยน้ำดีไอออไนซ์จะให้เมล็ดเทียมที่มีความแข็งแรง กลม และทนต่อการแตก ความผิดปกติของรูปร่างของเมล็ดเทียมอาจเกิดจากสารอาหารที่ไปลดความหนืดและความสามารถในการจับตัวกันเป็นเมล็ด โดยอาจเกี่ยวข้องกับพันธะไอออนิกที่เชื่อมระหว่างกลุ่มของกรดคาร์บอกไซลิค (carboxylic acid) ของอัลจิเนตซึ่งเป็นตัวที่ทำให้เกิดเป็นเมล็ดได้ โดยกลไกเหล่านี้อาจถูกทำลายได้โดยสารที่ละลายอยู่ในอาหาร (Barbotin *et al.*, 1993 อ้างโดย Piccioni and Standardi, 1995)

เมล็ดเทียมที่ผลิตด้วยโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยอาหารเหลวสูตร MS มีอัตราการงอกสูงกว่าเมล็ดเทียมที่ผลิตจากโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยน้ำกลั่น สอดคล้องกับรายงานของ Pattnaik และคณะ (1995) ซึ่งเปรียบเทียบการตอบสนองของตา Morus spp. พบว่า ตาที่หุ้มด้วยโซเดียมอัลจิ-เนตที่เตรียมด้วยอาหารเหลวสูตร MS มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงกว่าเมื่อเทียบกับโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยน้ำกลั่น เนื่องจากในการพัฒนาเป็นต้นจำเป็นต้องได้รับสารอาหาร โดยเมล็ดเทียมที่เตรียมด้วยอาหารเป็นการเลียนแบบเอนโดสเปิร์มของเมล็ดตามธรรมชาติ ในทางตรงกันข้าม การใช้น้ำกลั่นเตรียมโซเดียมอัลจิเนตไม่ช่วยในการงอกของเมล็ดเทียมเนื่องจากไม่มีสารอาหาร และเมื่อเปรียบเทียบอัตราการเกิดต้นของเมล็ดเทียมที่ผลิตด้วยโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยอาหารเหลวสูตร MS กับชิ้นส่วนปลายยอดที่ไม่หุ้ม พบว่าชิ้นส่วนปลายยอดที่ได้รับการหุ้มให้อัตราการเกิดต้นมากกว่าชิ้นส่วนที่ไม่หุ้ม ซึ่งขัดแย้งกับรายงานของ Piccioni (1997) ในการทดลองผลิตเมล็ดเทียม

ของชิ้นส่วนตาข้อของ Malus pumila Mill. พบว่า ตาข้อที่ไม่หุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตมีอัตราการเกิดต้นมากกว่าส่วนตาข้อที่หุ้ม ทั้งนี้ Hulst และคณะ (1989) (อ้างโดย Piccioni, 1997) ให้เหตุผลว่าอาจมีสาเหตุจากการแลกเปลี่ยนแก๊สระหว่างภายในกับภายนอกเมล็ดไม่เพียงพอ จึงทำให้เนื้อเยื่อได้รับออกซิเจนไม่เพียงพอซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน

6.2 ระยะเวลาในการเก็บเมล็ดเทียม

จากการทดลอง พบว่าอัตราการรอดชีวิตของเมล็ดเทียมลดลงเมื่อเวลาในการเก็บเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการทดลองของ *Soneji* และคณะ (2002) ซึ่งเก็บเมล็ดเทียมของสับปะรด (*Ananas comosus* L. Merr. Cv. Queen) เป็นเวลา 15 30 45 60 และ 90 วัน พบว่า อัตราการงอกเป็นต้นลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บนานขึ้น และเมื่อเก็บเป็นเวลา 90 วัน พบว่า เมล็ดเทียมมีอัตราการงอกเท่ากับ 0 และสอดคล้องกับรายงานของ Janeiro และคณะ (1997) ซึ่งทดลองเก็บเมล็ดเทียมของโซมาติกเอ็มบริโอของ *Camellia japonica* เป็นเวลา 30 วัน ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า อัตราการรอดชีวิตลดลงจาก 90 เป็น 13 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และยังพบว่า ระยะเวลาในการเก็บเป็นปัจจัยที่ทำให้ความมีชีวิตและการเกิดต้นของเอ็มบริโอที่หุ้มและไม่หุ้มลดลง ทั้งนี้ อาจเกี่ยวข้องกับการขาดแคลนออกซิเจนในเมล็ดเทียม และการสูญเสียความชื้นที่มากขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บที่นานขึ้น (Redenbaugh *et al.*, 1991 อ้างโดย Janeiro *et al.*,1997) นอกจากนี้ Ballester และคณะ (1997) รายงานว่า อัตราการรอดชีวิตของเมล็ดเทียมของ *Camellia japonica* ลดลงเมื่อเพิ่มช่วงเวลาในการเก็บ ทั้งนี้อาจมีสาเหตุมาจากวัสดุที่ใช้หุ้มชิ้นส่วนเป็นตัวลดออกซิเจนที่ชิ้นส่วนนำไปใช้

6.3 สภาวะในการเก็บเมล็ดเทียม

จากผลการทดลองเก็บเมล็ดเทียมในสภาวะต่างๆ กันคือที่มืดและสว่าง โดยมีสภาวะอื่นเหมือนกัน ซึ่งพบว่าอัตราการเกิดต้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเก็บในที่มืดหรือสว่าง ดังนั้นจึงเป็นผลดีในแง่ของการใช้บรรจุภัณฑ์ในระหว่างการขนส่ง ทำให้มีความสะดวกคือไม่ต้องคำนึงเรื่องแสงที่เมล็ดเทียมจะได้รับหรือไม่ในการขนส่งหรือเก็บรักษา ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสารอาหารที่เมล็ดเทียมได้รับจากอาหารเหลวสูตร ¼MS ที่เป็นตัวให้ความชื้นในระหว่างการเก็บรักษา

6.4 ผลของกรดแอบซิสซิคต่ออัตราการรอดชีวิตของเมล็ดเทียม

จากผลการทดลองแช่ชิ้นส่วนปลายยอดกล้วยหินเป็นเวลา 20 นาทีในสารละลายกรดแอบซิสซิคความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรก่อนผลิตเป็นเมล็ดเทียม พบว่ามีผลทำให้อัตราการงอกของเมล็ดเทียมต้นกล้วยหินลดลง เมื่อชักนำต้นด้วยอาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโม-

ลาร์ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Ara และคณะ (1999) ที่รายงานว่าเมล็ดเทียมของโซมาติกเอ็มบริโอของมะม่วง (*Mangifera indica* L.) ที่ได้รับกรดแอบซิสซิคความเข้มข้น 0.2 และ 0.4 ไมโครโมลาร์ ทำให้อัตราการงอกและการเกิดต้นลดลง และยังทำให้การงอกเป็นต้นล่าช้าไป 3 สัปดาห์ นับว่าเป็นผลดีต่อเมล็ดเทียมที่มีการขนส่งระยะทางไกลซึ่งไม่ต้องการให้ต้นพืชมีการงอก และพบว่าอัตราการงอกเท่ากับ 0 เมื่อได้รับกรดแอบซิสซิคความเข้มข้น 0.4 ไมโครโมลาร์ และจากผลการทดลองนี้จะเห็นว่ากรดแอบซิสซิคที่ชิ้นส่วนปลายยอดกล้วยหินได้รับมีความความข้นสูงถึง 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรหรือ 1.8 ไมโครโมลาร์ ซึ่งอาจเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อมีผลให้อัตราการงอกลดลงอย่างชัดเจน แต่เมื่อหุ้มชิ้นส่วนตายอดด้วยโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยอาหารเหลวสูตร MS จะช่วยให้อัตราการงอกไม่แตกต่างกับชิ้นส่วนตายอดที่ไม่ได้รับกรดแอบซิสซิคมากนัก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะโซเดียมอัลจิเนตที่ห่อหุ้มชิ้นส่วนช่วยให้เนื้อเยื่อฟื้นตัวจากความเป็นพิษของกรดแอบซิสซิคที่เข้มข้นเกินไป และอาหารเหลวที่เป็นส่วนประกอบในเมล็ดเทียมช่วยให้ชิ้นส่วนตายอดสามารถงอกได้ แต่ไม่ทำให้การงอกล่าช้ากว่าปกติแต่อย่างใด ดังนั้นกรดแอบซิสซิคความเข้มข้น0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรจึงไม่เหมาะสำหรับการผลิตเมล็ดเทียมของต้นกล้วยหิน

6.5 วัสดุที่ใช้ชักนำต้นให้เกิดจากเมล็ดเทียม

วัสดุที่สามารถชักนำให้เกิดต้นจากเมล็ดเทียมของกล้วยหินคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ แต่ไม่สามารถชักนำให้เกิดต้นได้เมื่อเลี้ยงบนเวอร์มิคูไลต์ผสมดิน สอดคล้องกับรายงานของ Pattnaik และคณะ (1995) ซึ่งเปรียบเทียบการงอกของเมล็ดเทียมของ *Morus* spp. บนวัสดุปลูกต่างๆ กัน พบว่า เมล็ดเทียมที่ชักนำต้นด้วยอาหารแข็งให้อัตราการเกิดต้นสูงกว่าเมล็ดเทียมที่ชักนำต้นด้วย Soilrite และ Soneji และคณะ (2002) รายงานว่าเมล็ดเทียมของสับปะรด (*Ananas comosus* L. Merr. Cv. Queen) ที่ชักนำโดยใช้วัสดุต่างๆ กัน พบว่า เมล็ดเทียมที่เลี้ยงบนดินปลอดเชื้อและ Soilrite มีอัตราการงอกต่ำและตายหลังจากเลี้ยง 5 - 6 วัน ส่วนเมล็ดเทียมที่เลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี MS vitamins myo-inositol 0.56 มิลลิโมลาร์ ซูโครส 0.06 โมลาร์ NAA 9.67 ไมโครโมลาร์ IBA 9.84 ไมโครโมลาร์ และ KN 9.29 ไมโครโมลาร์ มีอัตราการงอกสูงกว่าโดยมีการงอกทั้งส่วนรากและยอดได้ในเวลาเดียวกัน เกิดเป็นต้นที่สมบูรณ์ต่อไปได้ และสอดคล้องกับการทดลองของ Antonietta และคณะ (1999) ซึ่งชักนำต้นจากเมล็ดเทียมของโซมาติกเอ็มบริโอของ *Citrus reticulate* 'Blanco' ที่หุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยอาหารเหลวสูตร MS ที่มี GA_3 บนวัสดุปลูกต่างๆ กัน ได้แก่ อาหารแข็ง ดิน และ Perlite พบว่า อัตราการงอกของเมล็ดเทียมบนอาหารแข็งมีค่าสูงสุด นอกจากนี้ Ganapathi และคณะ (1992) รายงานว่าเมล็ดเทียมจากส่วนปลายยอดของกล้วยพันธุ์ 'Basrai' เมื่อนำมาชักนำให้เกิดต้นบนวัสดุปลูกต่างๆ กัน พบว่า

อาหารแข็งสูตร MS สามารถชักนำให้เมล็ดเทียมเกิดต้นได้ดีที่สุด ส่วน Soilrite ไม่สามารถชักนำให้เกิดต้นได้ สำหรับดินปลอดเชื้อ พบว่ามีการเกิดยอดได้ 10 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ ความล้มเหลวในการชักนำต้นอาจเนื่องมาจากสารอาหารในวัสดุหุ้มไม่เพียงพอต่อการพัฒนาของยอดให้สมบูรณ์ต่อไปได้

บทที่ 5

บทสรุป

1. ชิ้นส่วนที่เหมาะสมต่อการใช้เป็นชิ้นส่วนเริ่มต้นในการเพิ่มจำนวนต้นกล้วยหินคือ ส่วนตายอดและตาข้าง เนื่องจากใช้ระยะเวลาในการพัฒนาเป็นต้นน้อยกว่าส่วนปลี

2. การวางเลี้ยงลักษณะต่างๆ มีอิทธิพลต่อการเพิ่มจำนวนต้นกล้วยหิน โดยวางเลี้ยงในแนว ตะแคงส่วนที่ผ่าให้สัมผัสกับอาหารจะให้ผลดีที่สุด

3. อาหารที่สามารถชักนำต้นกล้วยหินได้จำนวนมากที่สุดสำหรับการศึกษาครั้งนี้ คือ อาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 44 ไมโครโมลาร์

4. การชักนำรากของต้นกล้วยหินสามารถทำได้โดยเลี้ยงด้วยอาหารแข็งสูตร MS ที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต และใช้เวลาในการปรับสภาพประมาณ 3 สัปดาห์ จะได้ต้นกล้วยหินที่มีความแข็งแรงเมื่อปลูกลงแปลง

5. สภาวะที่เหมาะสำหรับเก็บรักษากล้วยหินเป็นเวลา 6 เดือน คือการเก็บยอดกล้วยหินบนสำลีที่มีน้ำกลั่นหรือสารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน โดยมีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 25 เปอร์เซ็นต์

6. เมล็ดเทียมที่หุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่เตรียมด้วยอาหารเหลวสูตร MS เหมาะสำหรับการผลิตเมล็ดเทียมของต้นกล้วยหิน

7. การเก็บเมล็ดเทียมบนสำลีที่ให้ความชื้นด้วยอาหารเหลวสูตร ¼MS ที่สภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในที่มืด มีอัตราการเกิดต้นลดลง เมื่อระยะเวลาในการเก็บเพิ่มขึ้น แต่มีความสะดวกและประหยัดในกรณีที่ต้องมีการขนส่งหรือแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนพืช

8. สภาวะการเก็บเมล็ดเทียมของต้นกล้วยหินไม่ว่าในที่มืดหรือที่มีแสง ไม่มีอิทธิพลต่ออัตราการงอกของเมล็ดเทียม เมื่อเก็บเป็นเวลา 15 วัน บนสำลีที่ให้ความชื้นด้วยอาหารเหลวสูตร ¼MS ที่สภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

9. การแช่ชิ้นส่วนปลายยอดต้นกล้วยหินในกรดแอบซิสซิคความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 20 นาที ก่อนนำมาผลิตเป็นเมล็ดเทียม มีผลทำให้อัตราการงอกของเมล็ดเทียมลดลง

10. วัสดุชักนำให้เกิดต้นที่เหมาะสำหรับเมล็ดเทียมของต้นกล้วยหินคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 44 ไมโครโมลาร์

บรรณานุกรม

กัลยาณี อรรถฉัตร, กวิศร์ วานิชกุล และ จุลภาค คุ้นวงศ์. 2533. การเติบโตและเพิ่มปริมาณต้นของกล้วยหอมพันธุ์ Grande Naine โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วารสารวิชาการเกษตร. 8(2) : 2-9.

นพรัตน์ บำรุงรักษ์. 2536. พืชหลักปักษ์ใต้. สำนักพิมพ์ปีรามิด. กรุงเทพฯ.

เบญจมาศ ศิลาย้อย. 2534. กล้วย. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 92 หน้า

บุญยืน กิจวิจารณ์. 2540. เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. คลังนานาวิทยา. ขอนแก่น. 207 หน้า.

บุญยืน กิจวิจารณ์ และ รัชนี ฉวีราช. 2533. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยหอมทองในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 18(2) : 111-115.

พานิชย์ ยศปัญญา. 2541. กล้วยในเมืองไทย. มติชน. กรุงเทพฯ. 152 หน้า.

สมปอง เตชะโต. 2538. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเศรษฐกิจ หลักการและพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ. ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สงขลา. 120 หน้า.

สุจิตรา โพธิ์ปาน. 2541. การเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมกล้วย Abaca (*Musa textilis* Nee.) ในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุภาภรณ์ รุ่งเรืองขจรเลิศ. 2537. การศึกษาการเพิ่มปริมาณต้นกล้วยในกลุ่มหอมทองและหอมเขียวโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการเจริญเติบโตหลังย้ายปลูก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรดี สหวัชรินทร์. 2526. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย. วารสารพืชสวน 18(2) : 13-20.

Antonietta, G. M., Emanuele, P. and Alvaro, S. 1999. Effects of encapsulation on *Citrus reticulate* Blanco somatic embryo conversion. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 55 : 235-237.

Ara, H., Jaiswal, U. and Jaiswal, V. S. 1999. Germination and plantlet regeneration from encapsulated somatic embryos of mango (*Mangifera indica* L.). Plant Cell Reports 19 : 166-170.

Arinaitwe, G., Rubaihayo, P. R. and Magambo, M. J. S. 2000. Proliferation rate effects of cytokinins on banana (*Musa* spp.) cultivars. Scientia Horticulturae 86 : 13-21.

Arnison, P. G., Donaldson, P., Ho, L. C. C. and Keller, W. A. 1990. The influence of various physical parameters on anther culture of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*). Plant Cell Tiss. Org. Cult. 67 : 267-270.

Ballester, A., Janeiro, L. V. and Vieitez, A. M. 1997. Cold storage of shoot cultures and alginate encapsulation of shoot tips of *Camellia japonica* L. and *Camellia reticulate* Lindley. Scientia Horticulturae 71 : 67-78.

Bapat, V. A. 2000. Synthetic Seeds : A novel concept in seed biotechnology. http://www.barc.in/webpages/letter/newsletter_year_2000/websep htm.

Bertrand-Desbrunais, A., Noirot, M. and Charrier, A. 1991. Minimal growth *in vitro* conservation of coffee (*Coffea* spp.). Plant Cell Tiss. Org. Cult. 27 : 333-339.

Bhagyalakshmi and Singh, N. S. 1995. Role of liquid versus agar-gelled media in mass propagation and *ex vitro* survival in bananas. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 41 : 71-73.

Bonnier, F. J. M. and Tuyl, J. M. V. 1997. Long term *in vitro* storage of lily : effects of temperature and concentration of nutrients and sucrose. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 49 : 81-87.

Chinsuk, A. and Silayoi, B. 2001. Effect of culture media and growing media on Kluai Bep. Kasetsart J. (Nat. Sci.). 35 : 368-377.

Cronauer, S. S. and Krikorian, A. D. 1984. Rapid multiplication of bananas and plantains by *in vitro* shoot tip culture. HortScience 19 : 234-235.

Elleuch, H., Gazeau, C., David, H. and David, A. 1998. Cryopreservation does not affect the expression of a foreign *sam* gene in transgenic *Papaver somniferum* cells. Plant Cell Reports 18 : 94-98.

Ganapathi, T. R., Suprasana, P., Bapat, V. A. and Rao, P. S. 1992. Propagation of banana through encapsulated shoot tips. Plant Cell Reports 11 : 571-575.

Garcia, J. L., Troncoso, J., Sarmiento, R. and Troncoso, A. 2002. Influence of carbon source and concentration on the *in vitro* development of olive zygotic embryos and explants raised from them. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 69 : 95-100.

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

Hunter, C. P. 1985. The effect of anther orientation on the production of microspore-derived embryoids and plants of *Hordeum vulgare* cv. Sabarlis. Plant Cell Reports 4 : 267-268.

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

Janeiro, L. V., Ballester, A. and Vieitez, A. M. 1997. *In vitro* response of encapsulated somatic embryos of camellia. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 51 : 119-125.

Jarret, R. L., Rodriguez, W. and Fernandez, R. 1985. Evaluation, tissue culture propagation, and dissemination of 'Saba' and 'Pelipita' plantains in Costa Rica. Scientia Horticulturae 25 : 137-147.

Juli, N. A. and Khalid, N. 2001. Mass propagation of *Musa* spp. (*Musa acuminate* cv. Berangan) by using *in vitro* component meristem. *In* Proceeding of NSF Workshop 2001, Kuala Lumpur, Malaysia.

Kadota, M., Imizu, K. and Hirano, T. 2001. Double-phase *in vitro* culture using sorbitol increases shoot proliferation and reduces hyperhydricity in Japanese pear. Scientia Horticulturae 89 : 207-215.

Kanchanapoom, K. and Chanadang, N. 2000. *In vitro* culture of the banana *Musa* (AAA group, 'Gros Michel') 'Kluai Hom Thong' shoot tip. Journal of ISSAAS. 6 : 43-52.

Kanchanapoom, K. and Iampinit, W. 2002. Anther orientation and its influence on anther culture of papaya (*Carica papaya* L.). Journal of ISSAAS. 7 : 53-59.

Ko, W. H., Hwang, S. C. and Ku, F. M. 1991. A new technique for storage of meristem-tip cultures of 'Cavendish' banana. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 25 : 179-183.

Marino, G., Bertazza, G., Magnanini, E. and Altan, A. D. 1993. Comparative effects of sorbitol and sucrose as main carbon energy sources in micropropagation of apricot. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 34 : 235-244.

Maruyama, E., Ishii, K. and Kinoshita, I. 1998. Alginate encapsulation technique and cryogenic procedures for long-term storage of the tropical forest tree *Guazuma crinita* Mart. *in vitro* cultures. http://ss.jircas.affrc.go.jp/engpage/jarq/32-4/maruyama/ref10.htm

Marayuma, E., Kinoshita, I., Ishii, K. and Ohba, K. 1997. Germplasm conservation of the tropical forest trees, *Cedrela odorata* L., *Guazuma crinita* Mart., and *Jacaranda*

mimosaefolia D. Don., by shoot tip encapsulation in calcium-alginate and storage at 12-25°C. Plant Cell Reports 16 : 393-396.

Merry, S. F. and Zapata, F. J. 1987. Position of anthers at plating and its influence on anther callusing in rice. Plant Cell Reports 6 : 318-319.

Mezzetti, B., Conte, L. S. and Rosati, P. 1991. *Actinidia deliciosa in vitro* II. Growth and exogenous carbohydrates utilization by explants. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 26 : 153-160.

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

Noggle, G. R. 1983. Introduction plant physiology. 2nd ed. Prentice-Hall. New Jersey. 627 pp.

Pattnaik, S., Sahoo, Y. and Chand, P. 1995. Efficient plant retrieval from alginate-encapsulated vegetative buds of mature mulberry trees. Scientia Horticulturae 61 : 227-239.

Piccioni, E. and Standardi, A. 1995. Encapsulation of micropropagated buds of six woody species. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 42 : 221-226.

Piccioni, E. 1997. Plantlets from encapsulated micropropagated buds of M.26 apple rootstock. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 47 : 255-260.

Pruski, K., Kozai, T., Lewis, T., Astatkie, T. and Nowak, J. 2000. Sucrose and light on *in vitro* cultures of potato, chokecherry and saskatoon berry during low temperature storage. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 63 : 215-221.

Saiprasad, G. V. S. 2001. Artificial seeds and their applications. http://www.ias.ac.in/resonance/May2001/pdf/May2001p39-47.pdf

Sarkar, D. and Naik, P. S. 1998. Synseeds in potato: an investigation using nutrient-encapsulated *in vitro* nodal segments. Scientia Horticuturae 73 : 179-184.

Shiota, H., Tachibana, K., Watabe, K. and Kamada, H. 1999. Successful long-term preservation of abscisic-acid-treated and desiccated carrot somatic embryos. Plant Cell Reports 18 : 749-753.

Sicurani, M., Piccioni, E. and Standardi, A. 2001. Micropropagation and preparation of synthetic seed in M.26 apple rootstock I : attemps towards saving labor in the production of adventitious shoot tips suitable for encapsulation. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 66 : 207-216.

Silayoi, B. 2001. Micropropagation of Kluai Khai (*Musa acuminate* 'Kluai Khai') using sword suckers and inflorescences at various development stages. Kasetsart J. (Nat. Sci.). 35 : 361-367.

Simmonds, N. W. 1966. Bananas. 2nd ed. Longman, London. 512 pp.

Smith, M. K., Searle, C., Langdon, P. W., Schaffer, B. and Whiley, A. W. 2001. Comparison between micropropagated banana (*Musa* AAA; 'Williams') and conventional planting material during the first 12 months of development. Journal of Horticultural Science & Biotechnology 76 : 83-87.

Soneji, J. R., Rao, P. S. and Mhatre, M. 2002. Germination of synthetic seeds of pineapple *(Ananas comosus* L. Merr.*)*. Plant Cell Reports 20 : 891-894.

Swamy, R. D. and Sahijram, L. 1989. Micropropagation of banana from male floral apices cultured *in vitro*. Scientia Horticulturae 40 : 181-188.

Van den houwe, I., Smet, K. D., Montcel, H. T. and Swennen, R. 1995. Variability in storage potential of banana shoot cultures under medium term storage conditions. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 42 : 269-274.

Vuylsteke, D. R. and Ortiz, R. 1996. Field performance of conventional vs. *in vitro* propagules of plantain (*Musa* spp., AAB Group). HortScience 31 : 862-865.

Welander, M., Welander, N. T. and Brackman, A.-S. 1989. Regulation of *in vitro* shoot multiplication in *Syringa, Alnus* and *Malus* by different carbon source. Journal of Horticultural Science 64 : 361-366.

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

Zhong, J. 1995. Recent advances in cell cultures of *Taxus* spp. for production of the natural anticancer drug taxol. http://www.arpnet.it/anmfit/biotec.htm.

ภาคผนวก ก

ตารางที่ 7 แสดงส่วนประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962)

สารเคมี	มิลลิกรัมต่อลิตร
ธาตุอาหารหลัก	
KNO_3	1,900
NH_4NO_3	1,650
$CaCl_2 . 2H_2O$	440
$MgSO_4 . 7H_2O$	370
KH_2PO_4	170
ธาตุอาหารรอง	
$MnSO_4 . 4H_2O$	22.3
$ZnSO_4 . 7H_2O$	8.6
H_3BO_3	6.2
KI	0.83
$Na_2MoO_4 . 2H_2O$	0.25
$CuSO_4 . 5H_2O$	0.025
$CoCl_2 . 6H_2O$	0.025
เหล็ก	
Na_2EDTA	37.25
$FeSO_4 . 7H_2O$	27.85
สารอินทรีย์	
Myo-inositol	100
วิตามิน	
Nicotinic acid	0.5
Pyridoxine HCl	0.5
Thiamine HCl	0.1
Sucrose	30,000
Agar	7,000
pH	5.8

ภาคผนวก ข

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเพิ่มจำนวนยอดกล้วยหินเมื่อวางเลี้ยงชิ้นส่วนปลายยอดแบบต่างๆ กัน

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	60.700	4	15.175	11.241	.000**
Within Groups	20.250	15	1.350		
Total	80.950	19			

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนการเพิ่มจำนวนยอดกล้วยหินเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตไซโทไคนินชนิดและความเข้มข้นต่างๆ กัน

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4740.993	16	296.312	11.569	.000**
Within Groups	2996.589	117	25.612		
Total	7737.582	133			

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการงอกของเมล็ดเทียมจากการหุ้มชิ้นส่วนตายอดกล้วยหินด้วยโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยตัวทำละลายต่างๆ กัน

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	18633.333	2	9316.667	5.146	.008**
Within Groups	124916.67	69	1810.386		
Total	143550.00	71			

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการงอกของเมล็ดเทียมเมื่อเก็บเป็นระยะเวลาต่างๆ กัน

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	51100.000	2	25550.000	19.069	.000**
Within Groups	92450.000	69	1339.855		
Total	143550.00	71			

** = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการงอกของเมล็ดเทียมเมื่อเก็บที่สภาวะมีและไม่มีแสง

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	50.000	1	50.000	.024	.876^{ns}
Within Groups	143500.00	70	2050.000		
Total	143550.00	71			

ns = ไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการงอกของเมล็ดเทียมเมื่อชิ้นส่วนตายอดได้รับกรดแอบซิสซิคก่อนหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนต

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12272.222	1	12272.222	6.544	.013*
Within Groups	131277.78	70	1875.397		
Total	143550.00	71			

* = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

การเผยแพร่ผลงานวิชาการ

Poster presentation เรื่อง Preservation and Micropropagation of 'Kluai Hin' (*Musa balbisaina*) ในงาน การประชุมวิชาการประจำปี โดยสมาคมเทคโนโลยีชีวภาพแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 14 และการประชุมวิชาการประจำปี โดยโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (BRT) ครั้งที่ 6

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาว นรารัตน์ พรหมศร
วัน เดือน ปี เกิด	27 กันยายน 2519

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2543