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

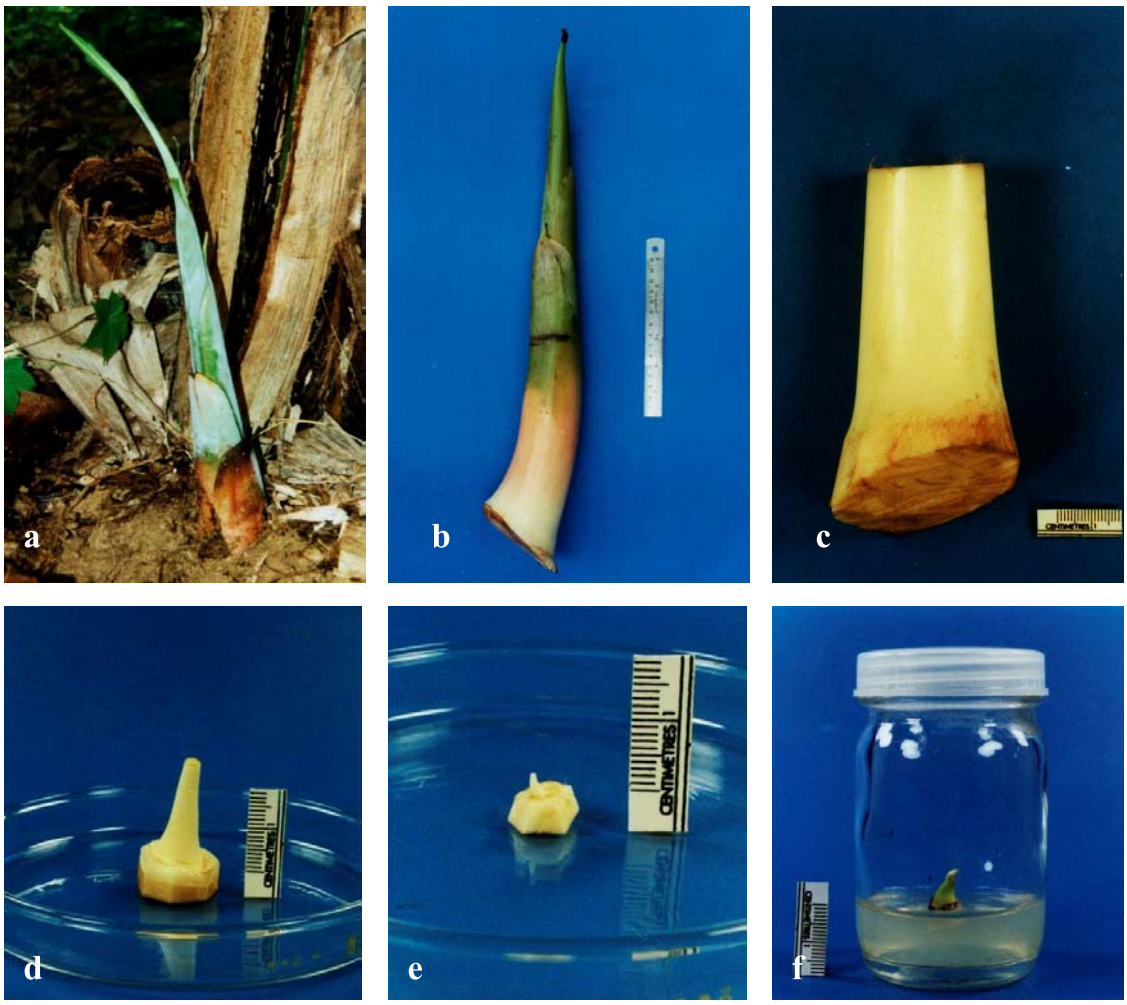
ขั้นที่ 1 แช่ชิ้นส่วนลงในสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับสารจับใบทวีน 20 ปริมาณ 2 หยด นาน 15 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้ง

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)

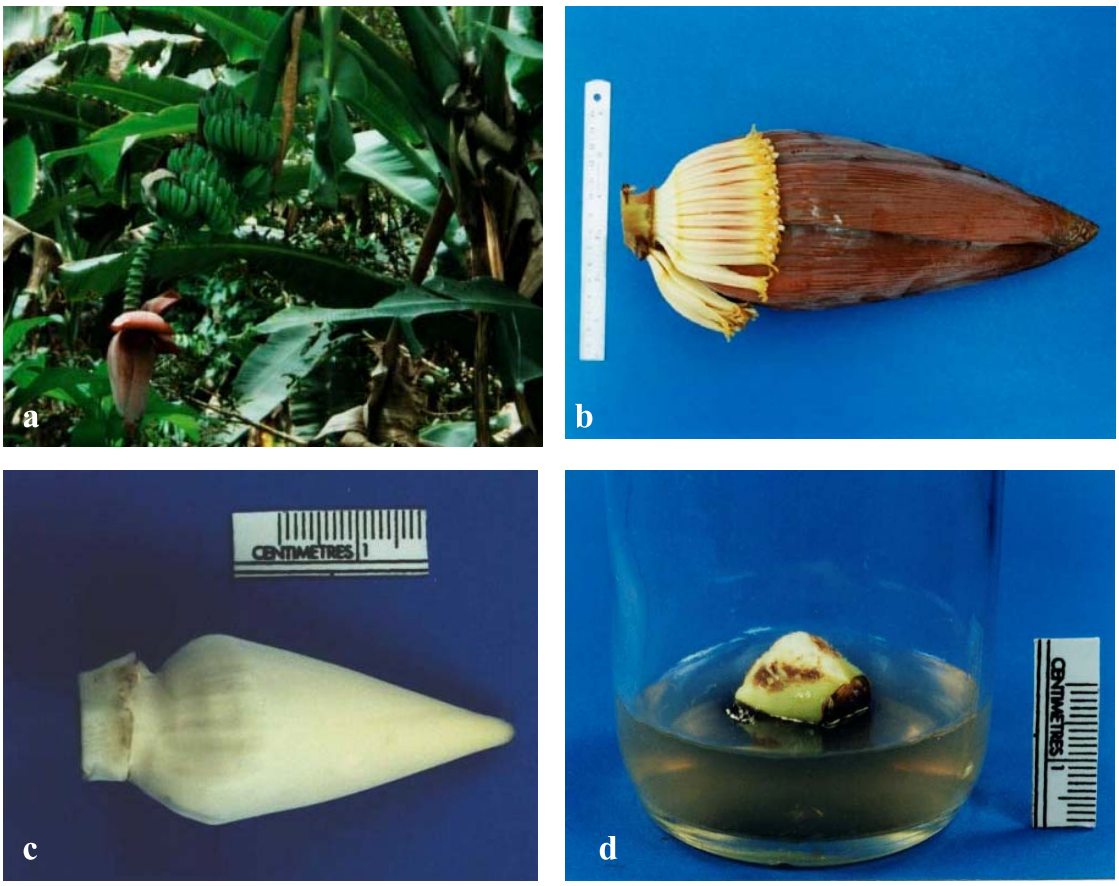
3. ย้ายเลี้ยงทุกๆ 3 สัปดาห์ โดยตัดส่วนที่เกิดสีดำออก แล้ววางเลี้ยงบนอาหารใหม่สูตรเดิม

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.

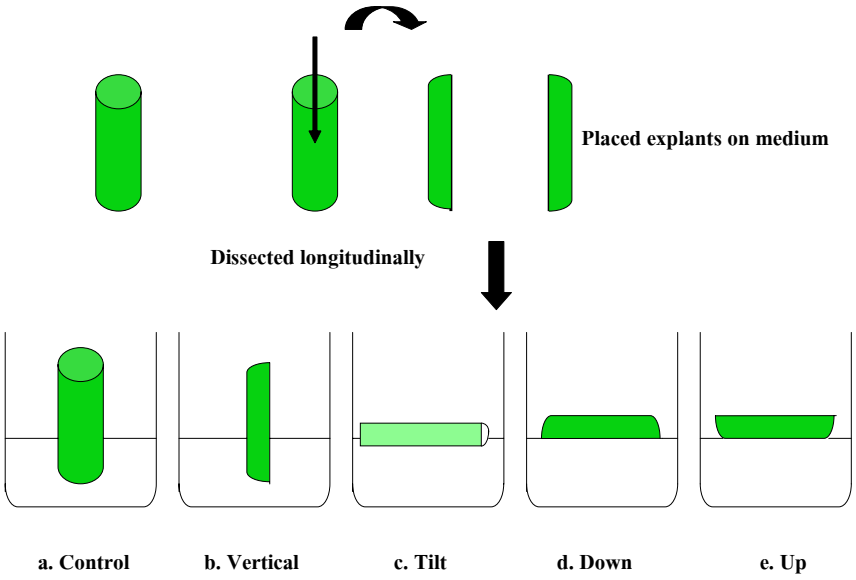


ภาพที่ 4 ลักษณะปลีของกล้วยหิน a, b) ปลีที่ใช้ในการทดลองนี้ c) ปลีที่ลอกส่วนกาบนอกออก ฟอกฆ่าเชื้อสองขั้นตอน และลอกกาบจนมีขนาดความยาวประมาณ 4 - 5 เซนติเมตร d) ชิ้นส่วนที่วางเลี้ยงบนอาหารชักนำต้น

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 1 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 เลี้ยงในขวด

ทดลองขนาด 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

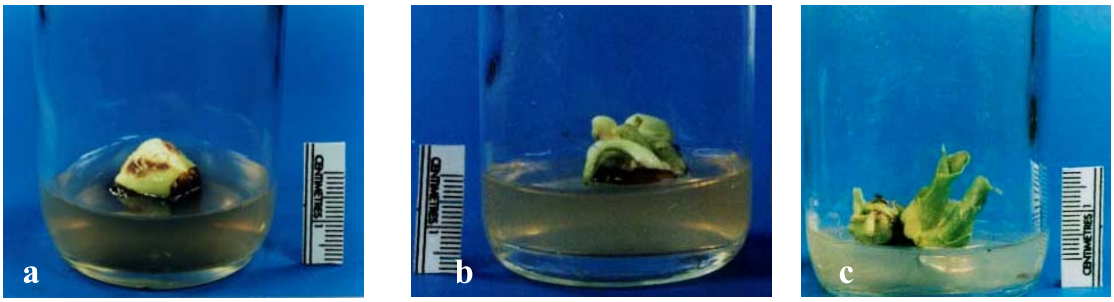
ผลการทดลอง

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 และการวางเลี้ยงโดยไม่ผ่าชิ้น ส่วนแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากจำนวนต้นที่ได้จากการวางเลี้ยงแบบคว่ำส่วนที่ผ่าให้สัมผัสกับอาหาร 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.

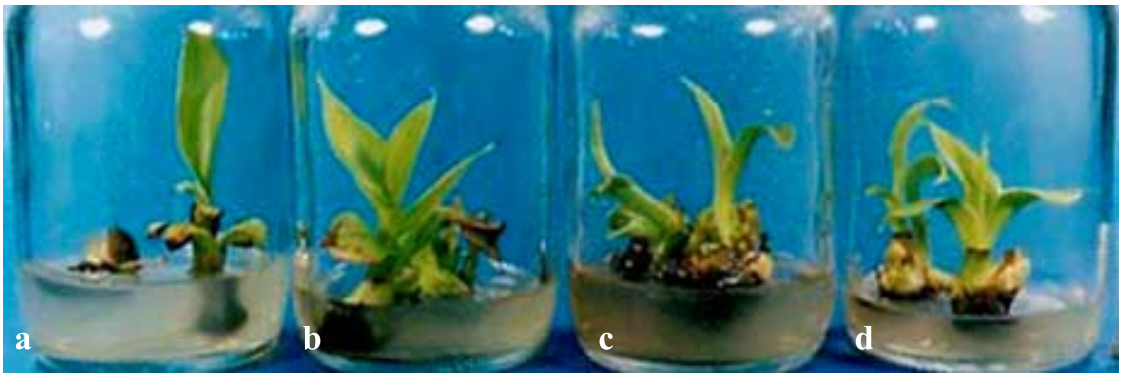
Means followed by different letters in column are significantly different by DMRT ($p \leq 0.01$)

3. สูตรอาหารเพาะเลี้ยงสำหรับการเพิ่มจำนวนยอดกล้วยหิน

การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนตายอดกล้วยหินบนอาหารสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญ เติบโตชนิดและความเข้มข้นต่างๆ กัน เป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยมีการย้ายเลี้ยงทุกๆ 3 สัปดาห์ ให้ ผลดังนี้

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 บางยอดเกิดรากในสัปดาห์ที่ 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

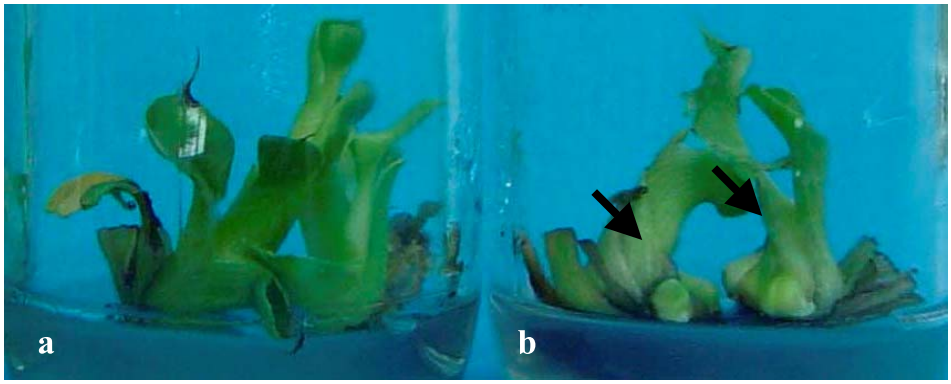
ชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA 4.4 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ สัปดาห์ที่ 3 มีการพัฒนาเป็นยอดและแตกหน่อ มียอดส่วนหนึ่งเกิดราก ชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ มีการพัฒนาเป็นยอด และมีการแตกหน่อเพิ่มมากขึ้น การพัฒนาเป็นยอดของชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA 44 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ดีกว่าชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA 4.4 และ 22 ไม

โครโมลาร์ ที่มีน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ สัปดาห์ที่ 6 ยอดกล้วยหินที่เกิดบนอาหารที่มี BA ทั้งสามความเข้มข้นมีการเจริญเติบโต และเพิ่มจำนวนหน่อมากขึ้น สัปดาห์ที่ 9 พบว่ายังคงมีการเพิ่มจำนวนหน่อมากขึ้น และจะคงที่ในสัปดาห์ที่ 12 ลักษณะใบของต้นกล้วยหินที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA ทั้งสามความเข้มข้นที่มีน้ำมะพร้าวไม่แตกต่างจากใบของต้นที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA ไม่มีน้ำมะพร้าว

ยอดกล้วยหินที่ได้จากชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA ความเข้มข้นต่างกันมีลักษณะการเจริญเติบโตและการพัฒนาเป็นยอดไม่แตกต่างกัน แต่ยอดกล้วยหินที่เกิดจากชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี BA 44 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าวมีขนาดใหญ่กว่าเมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี BA ความเข้มข้นอื่นๆ

3.3 อาหารสูตร MS ที่มี TDZ ความเข้มข้นต่างๆ

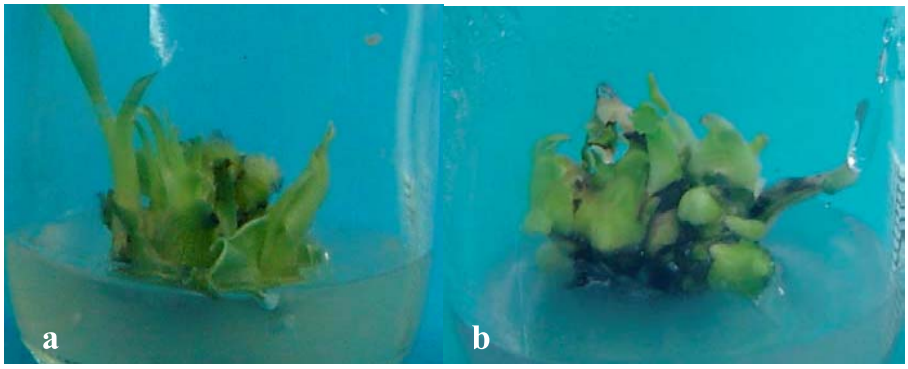
ชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี TDZ 0.1 ไมโครโมลาร์ สัปดาห์ที่ 3 มีการพัฒนาเป็นยอดที่มีลักษณะปกติ (ภาพที่ 9a) แต่ชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี TDZ 0.5 ไมโครโมลาร์ มีการพัฒนาเป็นยอดที่มีลักษณะอวบ ลำต้นสั้นเมื่อเทียบกับต้นปกติ และมีตุ่มเล็กๆ เกิดขึ้นที่ฐานของชิ้นส่วน (ศรชี้) (ภาพที่ 9b) สัปดาห์ที่ 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

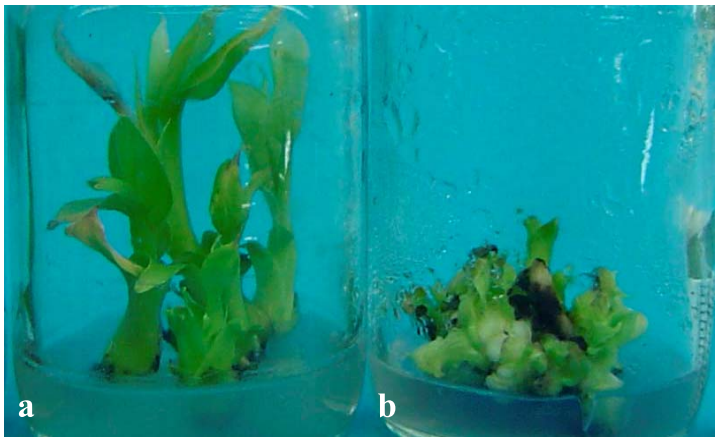
Figure 9 Shoots production growing on MS medium containing 0.1 (a) and 0.5 µM TDZ (b) for 3 weeks.

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

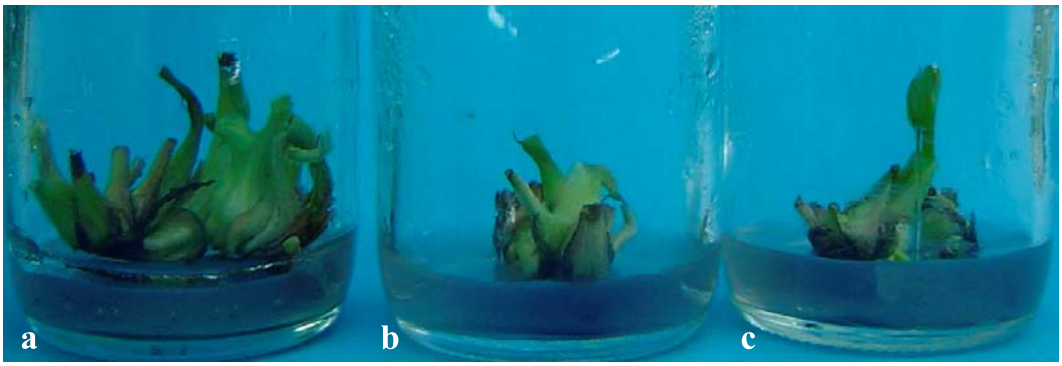
Figure 10 a) Fasciations of shoots growing on MS medium containing 0.1 µM TDZ for 9 weeks. b) Explant differentiation to clusters and plantlet growing on MS medium containing 0.5 µM TDZ for 9 weeks.



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

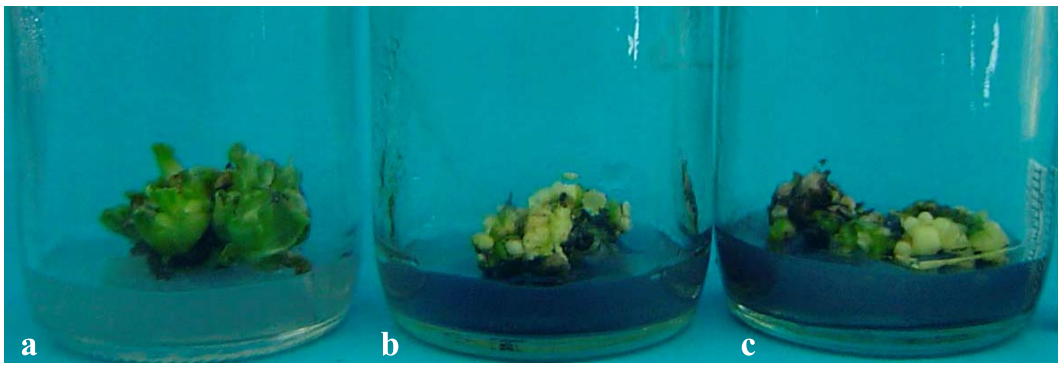
Figure 11 Shoots production growing on MS medium containing 0.1 (a) and 0.5 µM TDZ (b) for 12 weeks.

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 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

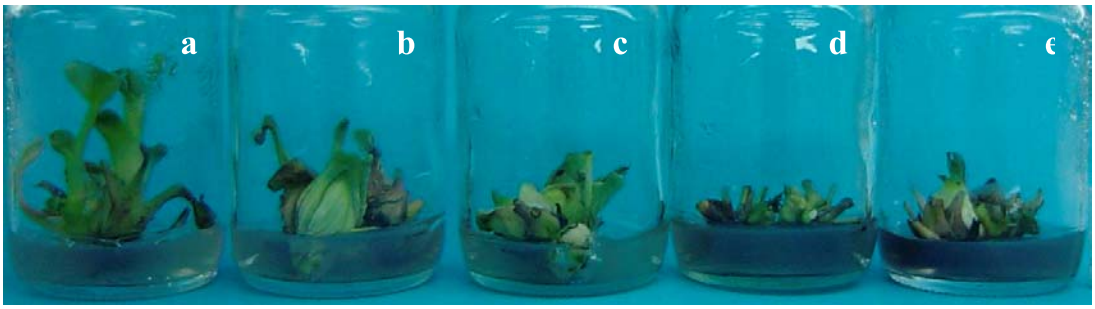
ชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี TDZ 0.1 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว สัปดาห์ที่ 3 มีการพัฒนาเป็นยอดที่มีลักษณะปกติ ขณะที่ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารที่มี TDZ 0.5 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว มีการพัฒนาเป็นยอดที่มีลักษณะอวบและลำต้นสั้นกว่า และเกิดตุ่มเล็กๆ ที่ฐานของชิ้นส่วน สำหรับชิ้นส่วนตายอดที่เลี้ยงบนอาหารที่มี 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 มีใบและลำต้นสั้นนั้นยังไม่มีการพัฒนาเป็นยอดที่สมบูรณ์ 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

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

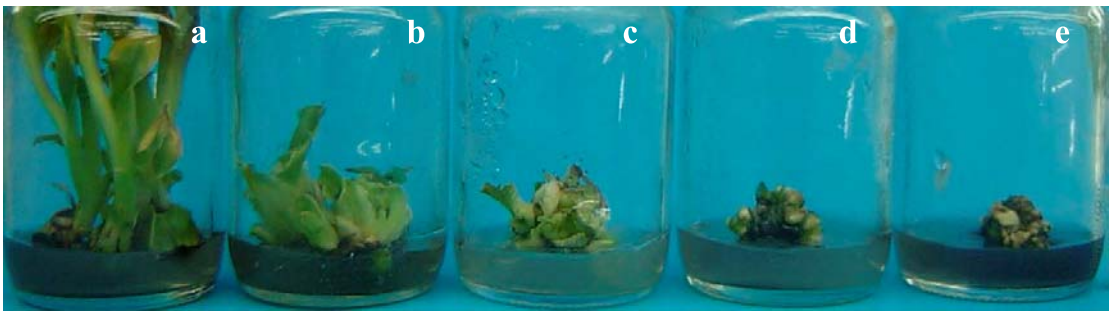
ภาพที่ 14 การเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเป็นตุ่มและยอดเมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ที่มี TDZ 5 ไมโครโมลาร์ และน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 สัปดาห์

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 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

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

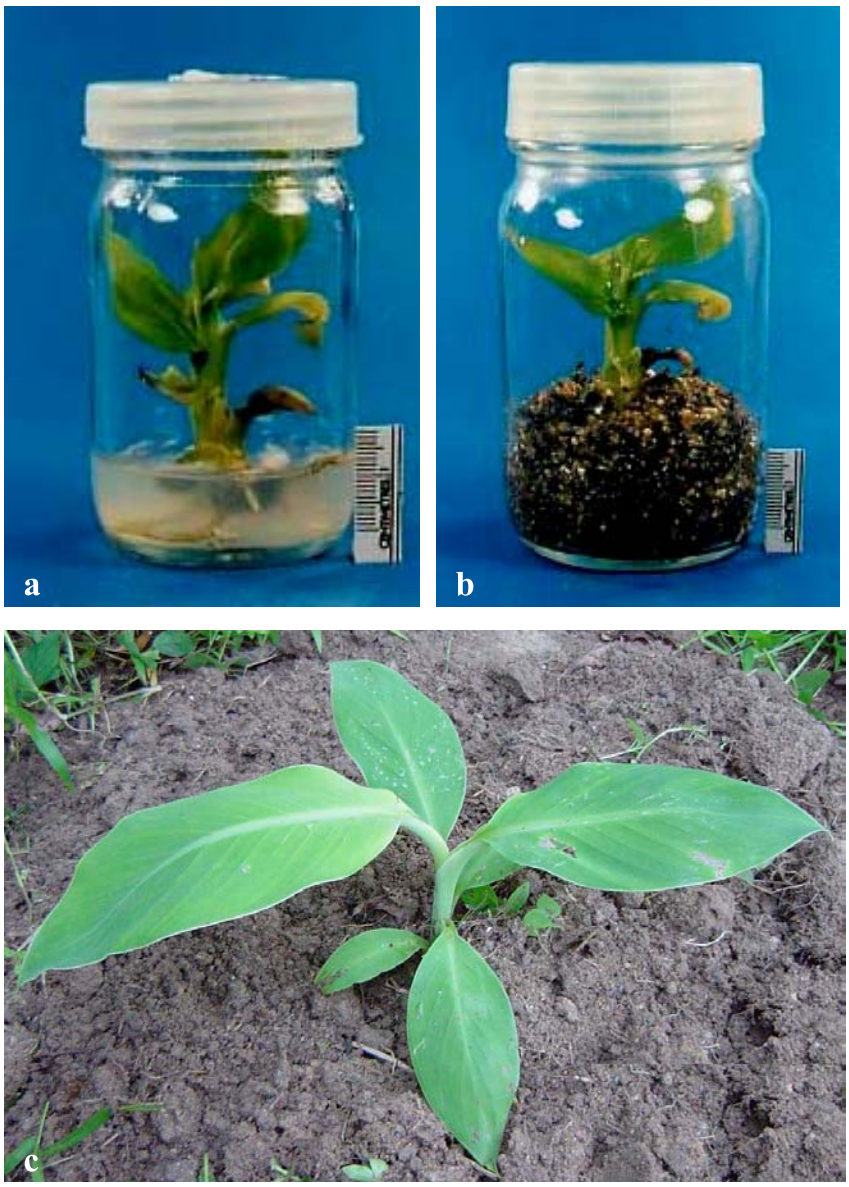
ค่าเฉลี่ยตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่กำกับด้วยอักษรที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการเปรียบเทียบโดย DMRT ($p \leq 0.01$)

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. สภาวะที่เหมาะสมต่อการชะลอการเจริญเติบโตของยอดกล้วยหินและการ

รอดชีวิต หลัง ผ่า นการชะลอการเจริญเติบโต

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 เดือน ได้ผลดังนี้

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 เดือน ไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA 22 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ บันทึกอัตราการรอดชีวิต โดยพิจารณายอดกล้วยหินที่รอดชีวิตและสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ พบว่า ยอดกล้วยหินทั้งหมดไม่สามารถรอดชีวิตได้

ยอดกล้วยหินที่ผ่านการชะลอการเจริญเติบโตโดยเก็บรักษาบนสำลีที่มีสารละลายน้ำตาลซอร์บิทอลที่ความเข้มข้น และสภาวะการเก็บต่างๆ กัน เป็นเวลา 3 เดือน ได้ผลดังนี้

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)

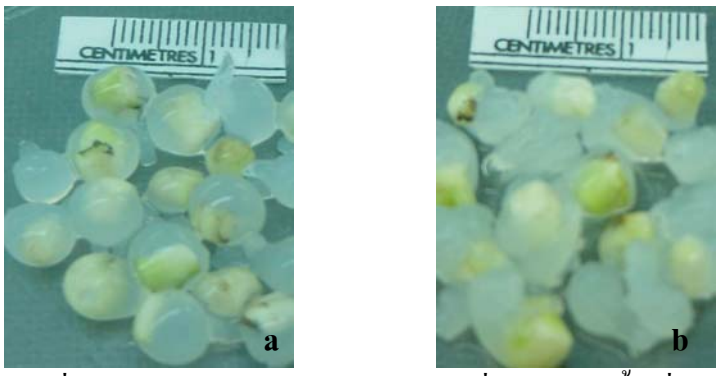
ภาพที่ 19 ต้นกล้วยหินที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน

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

6. สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตและเก็บเมล็ดเทียม การเจริญเติบโตของต้นกล้วยหินที่เกิดจากเมล็ดเทียม

6.1 การผลิตเมล็ดเทียม

จากการทดลองผลิตเมล็ดเทียมในเบื้องต้นโดยใช้สารละลายโซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้น 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) และอาหาร-เหลวสูตร 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 ส่วนชิ้นส่วนที่หุ้มด้วยโซเดียมอัลจิ-เนตที่เตรียมด้วยน้ำกลั่นที่ได้และไม่ได้รับกรดแอบซิสซิคมีการงอกไม่แตกต่างกัน แต่มีค่าต่ำกว่าชิ้นส่วนที่หุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตซึ่งเตรียมด้วยอาหารเหลวสูตร MS และยังพบว่าเมล็ดเทียมที่ไม่ผ่านการเก็บรักษาที่ไม่หุ้มและหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยน้ำกลั่น หรืออาหารเหลวสูตร MS มี

อัตราการงอกเป็นต้นไม่แตกต่างกัน 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 ไมโคร-โมลาร์เป็นเวลา 15 วัน

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