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 พบว่าต้นกล้วยหินเกิดรากภายในเวลา 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

จากการทดลองปรับสภาพต้นกล้วยหินหลังจากเกิดรากโดยนำต้นที่ได้มาล้างวุ้นให้สะ-อาด เพาะเลี้ยงในเวอร์มิคูไลต์ปลอดเชื้อ รดน้ำกลั่นพอชุ่มชื้น ปิดฝา แล้วเก็บรักษาไว้ในห้องเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นเปิดฝาเป็นเวลา 1 สัปดาห์ จึงย้ายลงในกระถางที่มีดินผสมแกลบ เถ้าและขุยมะพร้าว 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 และปลูกในกระถางที่มีส่วน

ผสมของเวอร์มิคูไลต์ 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 คาร์โบไฮเดรตมีอิทธิพลต่ออัตราความมีชีวิตของชิ้นส่วน โดยชนิดของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดของพืช 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 เปอร์เซ็นต์จะได้เมล็ดเทียมที่มีลักษณะแข็งแรง 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 การใช้

น้ำกลั่นเตรียมโซเดียมอัลจิเนตไม่ช่วยในการงอกของเมล็ดเทียมเนื่องจากไม่มีสารอาหาร และเมื่อเปรียบเทียบอัตราการเกิดต้นของเมล็ดเทียมที่ผลิตด้วยโซเดียมอัลจิเนตที่เตรียมด้วยอาหารเหลวสูตร MS กับชิ้นส่วนปลายยอดที่ไม่หุ้ม พบว่าชิ้นส่วนปลายยอดที่ได้รับการหุ้มให้อัตราการเกิดต้นมากกว่าชิ้นส่วนที่ไม่หุ้ม ซึ่งขัดแย้งกับรายงานของ Piccioni (1997) ในการทดลองผลิตเมล็ดเทียมของชิ้นส่วนตาข้อของ 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) ซึ่งทดลองเก็บเมล็ดเทียมของโซ-มาติกเอ็มบริโอของ *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 ไมโครโมลาร์ 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 และสอด

คล้องกับการทดลองของ 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 พบว่าอาหารแข็งสูตร 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 แต่มีความสะ-ดวกและประหยัดในกรณีที่ต้องมีการขนส่งหรือแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนพืช

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

9. การแช่ชิ้นส่วนปลายยอดต้นกล้วยหินในกรดแอบซิสซิคความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 20 นาที ก่อนนำมาผลิตเป็นเมล็ดเทียม มีผลทำให้อัตราการงอกของเมล็ดเทียมลดลง

10. วัสดุชักนำให้เกิดต้นที่เหมาะสำหรับเมล็ดเทียมของต้นกล้วยหินคือ อาหารแข็งสูตร MS ที่มี BA 44 ไมโครโมลาร์

ข้อเสนอแนะ

ในส่วนของการผลิตเมล็ดเทียมของชิ้นส่วนปลายยอดต้นกล้วยหิน ควรลดความเข้มข้นของกรดแอบซิสซิค หรือลดเวลาการแช่ชิ้นส่วนปลายยอดในกรดแอบซิสซิคก่อนนำมาผลิตเป็นเมล็ดเทียม เพื่อลดความเป็นพิษของกรดแอบซิสซิคที่เนื้อเยื่อได้รับ