รายงานการวิจัย

เรื่อง

ศึกษาวิธีการที่เหมาะสม ในการขยายพันธุ์กล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่อง โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

A Study of Suitable Techniques in Tissue-Culture Propagation of Mali-Ong Banana

โดย

รศ.ดร.นงคราญ กาญจนประเสริฐ

และ ผศ.ทัศนีย์ ศิริวรรณ

คณะเกษตรศาสตร์ สถาบันราชภัฏพิบูลสงคราม

พ.ศ. 2538

(รายงานวิจัยเรื่องนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานสภาสถาบันราชภัฏ)

คำนำ

การขยายพันธุ์กล้วยสามารถกระทำได้หลายวิธี การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนับเป็นวิธีการที่ทันสมัยวิธีหนึ่ง เพราะทำให้สามารถขยายพันธุ์ได้ปริมาณมาก ภายในระยะเวลาอันรวดเร็ว และได้หน่อที่ตรงตามพันธุ์ แต่ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย เพื่อให้ได้ผลตามจุดประสงค์นั้น กล้วยแต่ละชนิดแต่ละพันธุ์ มีวิธีการปฏิบัติแตกต่างกันไปหลายประการ กล้วยน้ำว้า เป็นกล้วยที่ประชาชนนิยมปลูกกันมากทั่วประเทศ การได้ทำการวิจัยศึกษาถึงวิธีการที่เหมาะสม เพื่อการขยายพันธุ์ นอกจากจะเกิดประโยชน์ในด้านวิชาการแล้ว ยังทำให้ได้หน่อกล้วยพันธุ์ดีปริมาณมาก เผยแพร่สู่เกษตรกรอย่างรวดเร็วด้วย

งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยดี เพราะความช่วยเหลือสนับสนุนจากหลายฝ่าย ขอขอบพระคุณสถาบันราชภัฏพิบูลสงคราม ที่กรุณาให้ใช้ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ขอขอบพระคุณ อาจารย์อรพิน เสละคร อาจารย์ขนิษฐา ผ่องแผ้ว และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทุกท่าน ซึ่งมีส่วนช่วยในด้านปฏิบัติการเพาะเลี้ยงอย่างดียิ่ง สุดท้ายขอขอบพระคุณสำนักงานสภาสถาบันราชภัฏ ที่กรุณาให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยในครั้งนี้

รองศาสตราจารย์ ดร.นงคราญ กาญจนประเสริฐ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ทัศนีย์ สิริวรรณ

พฤษภาคม 2538

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง : ศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์กล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่อง โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Title : A Study of Suitable Techniques in Tissue-Culture Propagation of Mali-Ong Banana

โดย : รองศาสตราจารย์ ดร.นงคราญ กาญจนประเสริฐ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ทัศนีย์ ศิริวรรณ

การศึกษาวิธีการที่เหมาะสม ในการขยายพันธุ์กล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่อง โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ด้วยการใช้ตายอด ตายอดที่มีกาบหุ้ม และการตัดแบ่งตายอดเป็น 4 ชิ้น จากหน่อขนาด 20, 50 และ 70 เซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ที่ปรับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็น 3 สูตร

ผลปรากฏว่า การเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ เมื่อใช้ตายอด ตายอดที่มีกาบหุ้ม เลี้ยงบนอาหารสูตร I (MS + BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร) คล้ายคลึงกับการเลี้ยงบนอาหารสูตร II (MS + Kn 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + BA 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) ส่วนการเลี้ยงบนอาหารสูตร III (MS + Kn 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) ทุกชิ้นส่วนเกิดแคลลัสเป็นจำนวนมาก จึงไม่เหมาะสมต่อการนำมาใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่อง สำหรับการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ จากหน่อขนาด 20, 50 และ 70 เซนติเมตร ไม่มีความแตกต่างกัน ภายหลังจากการตัดแบ่งเนื้อเยื่อเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ประมาณ 7 เดือน) พบว่าการใช้ตายอด ตายอดที่มีกาบหุ้ม และการตัดแบ่งตายอดเป็น 4 ชิ้น มีจำนวนหน่อเฉลี่ยเพิ่มขึ้น (จาก 1 หน่อ) เป็นจำนวน 147, 154 และ 393 หน่อ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .01 ส่วนการใช้อาหารสูตร I และอาหารสูตร II ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ABSTRACT

Title : A Study of Suitable Techniques in Tissue-Culture Propagation of Mali-Ong Banana

By : Nongkran Kanchanaprasert and Tassanee Siriwan

A study of suitable techniques in tissue - culture propagation of Mali-Ong banana by using shoot tips, shoot tips with several leaf sheaths and cutting shoot tips in to 4 pieces from 20, 50 and 70 cm. in legthe of suckers and Murashige and Skoog 's (1962) medium, with was supplemented with growth regulators in 3 combinations.

The results revealed that growth and development of explants for shoot tips cultures and shoot tips with several leaf sheath cultures on medium I (MS + BA 5 mg./l.) were same as medium II (MS + Kn 2.5 mg./l. + BA 2.5 mg./l.) callus was found, that unsuitable for propagation of Mali-Ong banana, and were the same as for 20, 50 and 70 cm. in legthe of suckers. Affter subcultured on medium I and medium II, at the end of 7 months the everage of number of plantlets by using shoot tips, shoot tips with several leaf sheaths and cutting shoot tips in to 4 pieces were 147, 154 and 393 plantlets / 1 sucker, wich was significantly different at .01 level, and by using medium I and II were not different.

สารบัญ

	หน้า
คำนำ	(1)
บทคัดย่อ	(2)
สารบัญ	(4)
สารบัญตาราง	(7)
สารบัญภาพ	(11)
สารบัญกราฟ	(13)
บทนำ	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย	3
ข้อตกลงเบื้องต้น	4
ขอบเขตของการวิจัย	5
คำนิยามศัพท์	6
สัญญลักษณ์ที่ใช้ในงานวิจัย	7
การพิจารณาข้อมูลเชิงปริมาณ	10
การตรวจเอกสาร	11
การขยายพันธุ์กล้วยน้ำว้า	12
การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	16
การขยายพันธุ์กล้วยด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	20
อาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	23
อาหารและฮอร์โมนสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย	25
ชิ้นส่วนของพืชที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	31

	หน้า
วิธีปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย	39
สถานการณ์ของกล้วยในประเทศไทย	43
วิธีดำเนินการวิจัย	46
วัสดุอุปกรณ์	46
สถานที่ปฏิบัติการ	48
ระยะเวลาทำการวิจัย	51
แผนการดำเนินงานวิจัย	51
การดำเนินงานวิจัย	53
การเก็บข้อมูล	61
การวิเคราะห์ข้อมูล	61
สถิติที่ใช้วิเคราะห์ข้อมูล	61
ผลการวิจัย	62
ลักษณะเด่นของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่เปลี่ยนแปลงไป	62
ขนาดของหน่อกล้วยที่นำมาใช้ปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	76
วิธีการตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหน่อกล้วยสำหรับเลี้ยงบนอาหาร	86
สูตรอาหารที่นำมาใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย	97
ปริมาณการแตกตาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ	110
อัตราการเพิ่มปริมาณหน่อกล้วยและการวิเคราะห์ผลทางสถิติ	114
วิจารณ์ผลการวิจัย	137
ลักษณะเด่นของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่เปลี่ยนแปลงไป	137
ขนาดของหน่อกล้วยที่นำมาใช้ปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	141
วิธีการตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหน่อกล้วยสำหรับเลี้ยงบนอาหาร	143

หน้า

สูตรอาหารที่นำมาใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย 145

ปริมาณการแตกตาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ 149

อัตราการเพิ่มปริมาณหน่อกล้วยและการวิเคราะห์ผลทางสถิติ 150

สรุป 153

อุปสรรคและข้อเสนอแนะ 155

เอกสารอ้างอิง 156

ภาคผนวก 164

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ลักษณะที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย เมื่อเพิ่มฮอร์โมนชนิดต่างๆลงไปในอาหารสูตร BP_{MS} (Gupta, 1986)	28
2	พื้นที่และผลผลิตกล้วยของประเทศไทยระหว่าง พ.ศ. 2531-2534	45
3	ปริมาณและมูลค่าการส่งออกของกล้วยในประเทศไทยระหว่าง พ.ศ. 2532-2535	45
4	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์แรกหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากขนาดของหน่อ	78
5	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์แรกหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนัก ในด้านขนาดของหน่อ	79
6	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 2 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากขนาดของหน่อ	81
7	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 2 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนัก ในด้านขนาดของหน่อ	82
8	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 3 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากขนาดของหน่อ	84
9	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 3 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนัก ในด้านขนาดของหน่อ	85

ตารางที่		หน้า
10	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์แรกหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากวิธีการตัดชิ้นส่วน	88
11	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์แรกหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนัก ในวิธีการตัดชิ้นส่วน	89
12	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 2 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากวิธีการตัดชิ้นส่วน	92
13	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 2 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนัก ในวิธีการตัดชิ้นส่วน	93
14	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 3 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากวิธีการตัดชิ้นส่วน	95
15	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 3 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนัก ในวิธีการตัดชิ้นส่วน	96
16	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์แรกหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากสูตรอาหาร	99
17	ค่าเฉลี่ยการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์แรกหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากสูตรอาหาร โดยวิธีการให้ค่าน้ำหนัก	100

ตารางที่		หน้า
18	ความสูงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 2 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากสูตรอาหาร	103
19	ค่าเฉลี่ยการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 2 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากสูตรอาหาร โดยวิธีการให้ค่าน้ำหนัก	104
20	ความสูงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 3 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากสูตรอาหาร	107
21	ค่าเฉลี่ยการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 3 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากสูตรอาหาร โดยวิธีการให้ค่าน้ำหนัก	108
22	ปริมาณการแตกตาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ในสัปดาห์ต่างๆตามขนาดของหน่อ วิธีการตัดแบ่ง และสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยง	111
23	ปริมาณหน่อที่เพิ่มขึ้นในช่วงสัปดาห์ต่างๆ เมื่อพิจารณาจากขนาดของหน่อ วิธีการตัดชิ้นส่วน และสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อ	115
24	อัตราการเพิ่มปริมาณหน่อแต่ละช่วงสัปดาห์ เมื่อพิจารณาจากการเลี้ยงบนอาหารสูตร I	116
25	อัตราการเพิ่มปริมาณหน่อแต่ละช่วงสัปดาห์ เมื่อพิจารณาจากการเลี้ยงบนอาหารสูตร II	117
26	ปริมาณหน่อกล้วยที่เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 17 เมื่อใช้หน่อสูงขนาด 20 เซนติเมตรปฏิบัติการ	132
27	ปริมาณหน่อกล้วยที่เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 17 เมื่อใช้หน่อสูงขนาด 50 เซนติเมตรปฏิบัติการ	133

ตารางที่		หน้า
28	ปริมาณหน่อกล้วยที่เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 17 เมื่อใช้หน่อสูงขนาด 70 เซนติเมตรปฏิบัติการ	134
29	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการจัดการทดลองแบบแฟกตอเรียล โดยมี 3 ปัจจัย (3x3x2)	135

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของหน่อกล้วยแบบต่างๆ จำนวน 3 ลักษณะ	14
2	ลักษณะปลายยอดของพืช และลำดับขั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญ	18
3	อาคารปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สถาบันราชภัฏพิบูลสงคราม	49
4	ห้องเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อภายในอาคาร	49
5	ตู้ย้ายเนื้อเยื่อใช้สำหรับปฏิบัติการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อและเปลี่ยนอาหาร	50
6	ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อใช้สำหรับวางขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังปฏิบัติการแล้ว	50
7	สภาพสวนกล้วยของเกษตรกรที่บ้านเกาะดู อำเภอบางกระทุ่ม	54
8	การขุดหน่อกล้วยเพื่อนำมาใช้ปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	54
9	ลักษณะหน่อกล้วยที่มีความสูงต่างกัน 3 ระดับ เพื่อนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	55
10	การลอกกาบกล้วยก่อนนำมาใช้ปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	55
11	การเตรียมอาหารสำหรับใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	57
12	การนึ่งอาหารเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อนึ่งความดันไฟฟ้า	57
13	วงจรการขยายพันธุ์กล้วยด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ	58
14	ส่วนหนึ่งของขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อภายในห้องเพาะเลี้ยงขณะทำการวิจัย	60
15	การบันทึกผลความเปลี่ยนแปลงเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อทุกสัปดาห์	60
16	การตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหน่อกล้วย 3 วิธีการ ในระยะเริ่มปฏิบัติการครั้งแรก	64
17	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกล้วยในสัปดาห์ที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง	64
18	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกล้วยในสัปดาห์ที่ 4 (3 ส หลัง Sub)	65
19	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกล้วยในสัปดาห์ที่ 7 (3 ส หลัง Sub)	65
20	การเป็นแคลลัสเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ III สัปดาห์ที่ 7(3 ส หลังSub)	67

ภาพที่		หน้า
21	การตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารเมื่อลอกกาบออกมากและลอกกาบออกน้อย	67
22	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกลุ่ม TP สัปดาห์ที่ 10(2 ส หลัง Sub)	68
23	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกลุ่ม TX สัปดาห์ที่ 10(2 ส หลัง Sub)	68
24	เปรียบเทียบการเจริญพัฒนาของกลุ่ม TPp เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 3 สูตร	70
25	เปรียบเทียบการเจริญพัฒนาของกลุ่ม TX เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 3 สูตร	70
26	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อในสัปดาห์ที่ 11 (3 ส หลัง Sub)	72
27	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อในสัปดาห์ที่ 17 (1 ส หลัง Sub)	72
28	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อในสัปดาห์ที่ 18 (2 ส หลัง Sub)	73
29	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกลุ่ม TX สัปดาห์ที่ 18 (2 ส หลังSub)	73
30	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อในสัปดาห์ที่ 19 (3 ส หลังSub)	74
31	การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกลุ่ม TPp สัปดาห์ที่ 19(3 ส หลังSub)	74

สารบัญกราฟ

กราฟที่		หน้า
1	ปริมาณหน่อกล้วยที่เพิ่มขึ้นแต่ละช่วงการตัดแบ่งของหน่อกล้วยขนาด 20 เซนติเมตร เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ I	119
2	ปริมาณหน่อกล้วยที่เพิ่มขึ้นแต่ละช่วงการตัดแบ่งของหน่อกล้วยขนาด 50 เซนติเมตร เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ I	121
3	ปริมาณหน่อกล้วยที่เพิ่มขึ้นแต่ละช่วงการตัดแบ่งของหน่อกล้วยขนาด 70 เซนติเมตร เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ I	122
4	ปริมาณหน่อกล้วยที่เพิ่มขึ้นแต่ละช่วงการตัดแบ่งของหน่อกล้วยขนาด 20 เซนติเมตร เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ II	124
5	ปริมาณหน่อกล้วยที่เพิ่มขึ้นแต่ละช่วงการตัดแบ่งของหน่อกล้วยขนาด 50 เซนติเมตร เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ II	126
6	ปริมาณหน่อกล้วยที่เพิ่มขึ้นแต่ละช่วงการตัดแบ่งของหน่อกล้วยขนาด 70 เซนติเมตร เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ II	127
7	ค่าเฉลี่ยของปริมาณหน่อกล้วยที่เพิ่มขึ้นแต่ละช่วงการตัดแบ่ง	129

บทนำ

กล้วย เป็นผลไม้พื้นบ้านที่คนไทยรู้จักดี เนื่องจากในสมัยโบราณคนชนบทมักนิยมนำมาบดผสมข้าวให้บุตรหลานรับประทาน กล้วยนับเป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางอาหาร สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ทุกส่วน เช่น ผล ดอก หยวก ใช้บริโภค ส่วนที่เหลือ เช่น ต้น ใบ กาบ ยังนำไปใช้ห่อของ ห่อขนม ทำศิลปประดิษฐ์และใช้เลี้ยงสัตว์ เป็นต้น นอกจากนั้นกล้วยยังมีสรรพคุณใช้รักษาโรคต่างๆได้หลายชนิด เช่น โรคกระเพาะ ท้องผูก ท้องเสียเรื้อรัง ความดันโลหิตสูง คอเจ็บ คอหอยพอก เคืองตา และบำรุงผิว ฯลฯ (โครงการสมุนไพรเพื่อการพึ่งตนเอง, 2531)

กล้วยเป็นพืชที่ขึ้นได้เกือบทุกภาคของประเทศไทย เนื่องจากปลูกง่ายเจริญเติบโตเร็ว กล้วยที่คนไทยปลูกมีหลายชนิด เช่น กล้วยไข่ กล้วยหอม กล้วยน้ำว้า ฯลฯ แต่ที่นิยมปลูกครอบคลุมพื้นที่กว้างขวางมากกว่ากล้วยชนิดอื่นคือ กล้วยน้ำว้า เป้าหมายของการผลิตกล้วยน้ำว้า แม้ว่าจะมิใช่เป็นการผลิตเพื่อส่งออก แต่ทางรัฐบาลได้พยายามสนับสนุนส่งเสริมให้ขยายพื้นที่ปลูกทั่วประเทศ เพราะได้ประโยชน์ทั้งในแง่ช่วยรักษาสภาพแวดล้อมและยังใช้ในโครงการอาหารกลางวันเพื่อให้เด็กนักเรียนโรงเรียนต่างๆได้รับประทาน อันจะเป็นการช่วยลดการเป็นโรคขาดอาหารในเด็กอีกทางหนึ่งด้วย เนื่องจากกล้วยมีคุณค่าทางอาหารสูงมาก ประกอบด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน วิตามิน และเกลือแร่ปริมาณมาก การบริโภคนอกจากรับประทานสดแล้ว ยังสามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆเพื่อการถนอมอาหารได้หลายชนิด เช่น กล้วยฉาบ กล้วยกวน กล้วยตาก ฯลฯ โดยเฉพาะกล้วยตาก เป็นผลิตภัณฑ์แปรรูป ที่ทำรายได้ให้แก่เกษตรกรมาก เนื่องจากประชาชนนิยมบริโภคจึงสามารถส่งจำหน่ายได้ทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ

กล้วยตาก เป็นสินค้าพื้นเมืองที่มีชื่อเสียงอย่างหนึ่งของจังหวัดพิษณุโลก ผลิตกันมากในเขตอำเภอบางกระทุ่ม โดยเฉพาะกล้วยตาก ที่ผลิตมาจากกล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่อง เนื่องจากมีคุณสมบัติเด่นกว่ากล้วยน้ำว้าพันธุ์อื่นๆคือ มีกลิ่นหอม รสหวาน เนื้อเนียนเหนียว

นุ่ม ไส้ขาว และไม่มีเมล็ด จึงเป็นที่นิยมของผู้บริโภค จำหน่ายได้ราคาสูง ในอดีตการผลิตกล้วยตากกระทำโดยนำกล้วยสุกไปตากแดด โดยมิได้มีการควบคุมป้องกันด้านความสะอาดและรักษาคุณภาพ แต่ปัจจุบันได้มีการพัฒนามาใช้ตู้อบพลังงานแสงอาทิตย์ เพื่อรักษาความสะอาดและถูกอนามัย ตลอดจนการบรรจุหีบห่อก็ได้มาตรฐาน ทำให้น่ารับประทานและราคาจำหน่ายสูงขึ้น บางแห่งเกษตรกรได้รวมกลุ่มกันผลิต ในลักษณะเป็นอุตสาหกรรมครัวเรือน และกระทำแบบการเกษตรครบวงจร แต่เกษตรกรยังประสบปัญหาหลายประการทั้งในด้านการผลิต และคุณภาพของกล้วย ดังนั้นทางอำเภอบางกระทุ่ม จังหวัดพิษณุโลกจึงมีนโยบายขยายพื้นที่ปลูกกล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่อง รวมทั้งทำการปรับปรุงสวนเก่าซึ่งเป็นพื้นที่ทำการปลูกกล้วยมาเป็นระยะเวลานานมากกว่า 50 ปี โดยจัดทำโครงการ ปรับปรุงสวนกล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่องในพื้นที่ประมาณ 700ไร่ ด้วยการได้รับความสนับสนุนช่วยเหลือจากธนาคารเพื่อการเกษตร เป็นผู้ให้สินเชื่อแก่เกษตรกร เกษตรจังหวัดพิษณุโลก และสถาบันราชภัฏพิบูลสงคราม เป็นผู้อบรมให้ความรู้เกี่ยวกับการปลูก การบำรุงรักษาและการผลิตกล้วยตาก แต่การดำเนินงานประสบปัญหาสำคัญคือ การขยายพันธุ์กล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่อง ซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตกล้วยตากมิได้เป็นไปตามเป้าหมาย เพราะขาดแคลนพันธุ์ที่ต้องการ เนื่องจากมีเกษตรกรปลูกกล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่องกันเพียงจำนวนน้อย จึงไม่สามารถนำหน่อไปขยายพันธุ์ปลูกในปริมาณมากได้ นอกจากนั้นการแยกหน่อไปปลูกยังขยายพันธุ์ได้ช้า และอาจมีการกลายพันธุ์ทำให้ผลผลิตที่ได้รับไม่มีคุณภาพ ตรงความต้องการ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นเทคโนโลยีสมัยใหม่แนวทางหนึ่ง ซึ่งจะช่วยให้เกษตรกรได้หน่อกล้วยตรงตามพันธุ์ที่ต้องการ สามารถขยายพันธุ์ได้ปริมาณมากภายในระยะเวลาอันรวดเร็ว จึงน่าจะช่วยให้ขยายพื้นที่ปลูกได้กว้างขวางตามต้องการ ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งว่า ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่องนั้น หน่อกล้วยที่นำมาใช้ควรมีขนาดใด เลี้ยงบนอาหารสูตรใด และควรใช้วิธีการตัดชิ้นส่วนอย่างไร จึงจะมีความเหมาะสม พร้อมทั้งส่งผลให้กล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่องเจริญเติบโต แตกหน่อดี

มีหน่อที่สมบูรณ์ สำหรับนำมาใช้ปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อไป ผลที่ได้จากการศึกษาวิจัยครั้งนี้ นอกจากจะเป็นการนำเทคโนโลยีชีวภาพ มาประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์แก่ท้องถิ่นและสังคมโดยส่วนรวมแล้ว ยังทำให้สามารถขยายพันธุ์กล้วยออกสู่เกษตรกรได้ในปริมาณมาก ภายในระยะเวลาอันรวดเร็วอีกทางหนึ่งด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อต้องการทราบว่า หน่อกล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่องขนาดใด จะมีความเหมาะสมสำหรับนำมาใช้ขยายพันธุ์ ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมากที่สุด

2. เพื่อต้องการทราบว่า วิธีการตัดชิ้นส่วนหน่อกล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่องลักษณะใด จะทำให้ได้ปริมาณหน่อกล้วย สำหรับนำมาใช้ขยายพันธุ์มากที่สุด

3. เพื่อต้องการทราบว่าอาหารสูตรใด มีความเหมาะสมสำหรับนำมาใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อการขยายพันธุ์กล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่องมากที่สุด

4. เพื่อต้องการทราบการเปลี่ยนแปลงด้านต่างๆของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ที่เกิดขึ้นในช่วงที่นำมาปฏิบัติการตามขั้นตอนต่างๆ ตั้งแต่เริ่มต้นจนกระทั่งสิ้นสุดการวิจัย เช่น ลักษณะการเจริญพัฒนา การแตกตา อัตราการเพิ่มปริมาณหน่อ ขนาดของหน่อ ฯลฯ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ทำให้ทราบข้อมูลซึ่งเหมาะสมที่สุด ในการนำกล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่องมาใช้ขยายพันธุ์ โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อด้านต่างๆคือ

   1.1 ขนาดของหน่อกล้วยที่จะนำมาใช้ปฏิบัติการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์

   1.2 วิธีการตัดชิ้นส่วนหน่อกล้วยสำหรับใช้เพาะเลี้ยงบนอาหาร

   1.3 สูตรอาหารที่นำมาใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่อง

   1.4 ความเปลี่ยนแปลงด้านการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ และหน่อ

กล้วย ขณะทำการเพาะเลี้ยง

1.5 อัตราการเพิ่มปริมาณหน่อกล้วย สำหรับนำไปใช้ขยายพันธุ์

2. ทำให้ได้หน่อกล้วยปริมาณมาก ตรงตามพันธุ์ที่ต้องการในระยะเวลาอันรวดเร็ว สำหรับนำไปเผยแพร่สู่เกษตรกรตามเป้าหมาย

3. ผลที่ได้จากการวิจัย สามารถนำมาใช้ประโยชน์กับงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย ที่กำลังดำเนินงานอยู่ในปัจจุบัน นอกจากนั้นยังใช้เป็นพื้นฐานสำหรับการวิจัยให้ลึกซึ้งและเป็นประโยชน์มากขึ้น รวมทั้งการวิจัยติดตามผล เมื่อได้นำหน่อกล้วยขยายพันธุ์ลงสู่พื้นที่ของเกษตรกรแล้ว

ข้อตกลงเบื้องต้น

1. หน่อกล้วยซึ่งนำมาจากสวนของเกษตรกร ถือว่าเป็นหน่อที่มีความสมบูรณ์เหมือนกัน มีความแตกต่างกันเพียงระดับความสูงของหน่อเพียงอย่างเดียว มิได้คำนึงถึงอายุของหน่อซึ่งอาจมีความแตกต่างกันบ้าง ขนาดของหน่อแบ่งออกเป็น 3 ระดับคือ ขนาดเล็ก (สูงประมาณ 20 เซนติเมตร) ขนาดกลาง (สูงประมาณ 50 เซนติเมตร) ขนาดใหญ่ (สูงประมาณ 70 เซนติเมตร)

2. วิธีการตัดแบ่งชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อกล้วยในห้องปฏิบัติการ ถือว่าเทคนิคของผู้ตัดแบ่งทุกคนคล้ายคลึงกัน ไม่มีอิทธิพลต่อการเก็บข้อมูลด้านต่างๆ

3. ในการเก็บข้อมูล ใช้วิธีสังเกตพิจารณาและตรวจนับ การเปลี่ยนแปลงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ จำนวนหน่อ จากภายนอกขวดเพาะเลี้ยง ข้อมูลที่ได้ถือเป็นข้อมูลที่ใกล้เคียงความเป็นจริง และยอมรับได้

3. ข้อมูลที่เก็บแต่ละครั้ง และข้อมูลรวมที่ได้หลังจากการตัดแบ่ง 7 ครั้ง ถือเป็นภาพรวมของกลุ่มตัวอย่าง สามารถนำมาสรุปผลเป็นภาพรวมทั้งหมดได้

ขอบเขตของการวิจัย

งานวิจัยครั้งนี้ ใช้หน่อกล้วยพันธุ์มะลิอ่องจากสวนเกษตรกร ซึ่งคาดว่าเป็นผู้นำมาปลูกในท้องถิ่นนี้ครั้งแรก เป็นสวนขนาดใหญ่มีเนื้อที่ประมาณ 700 ไร่ ตั้งอยู่ที่บ้านเกาะคู ตำบลเกาะคู อำเภอบางกระทุ่ม จังหวัดพิษณุโลก หน่อกล้วยที่นำมาใช้ปฏิบัติการรวมทั้งสิ้น 270 หน่อ ในการวิจัยได้ศึกษาเกี่ยวกับความเหมาะสมของหน่อกล้วย และวิธีปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์ในห้องปฏิบัติการ โดยพิจารณาจากความแตกต่างในด้าน ขนาดของหน่อกล้วยที่นำมาใช้ 3 ขนาด วิธีการตัดชิ้นส่วนหน่อกล้วย 3 วิธี และอาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อ 3 สูตร

การเก็บข้อมูล ใช้วิธีการสังเกตพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อในด้านต่างๆ จากภายนอกขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทุกสัปดาห์ ภายในระยะเวลา 8 สัปดาห์หลังจากเริ่มปฏิบัติการ ถ้าปรากฏว่าอาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อสูตรใด มีความเหมาะสมสำหรับนำมาใช้เพื่อการขยายพันธุ์มากที่สุด จะใช้สูตรดังกล่าวนั้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มปริมาณหน่อต่อไป ขณะเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 4 สัปดาห์ โดยวิธีที่ 1 และ วิธีที่ 2 จะเริ่มทำการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อตามความเหมาะสม ในการตัดแบ่งเนื้อเยื่อและเปลี่ยนอาหารใหม่ครั้งที่ 3 เพื่อเพิ่มปริมาณหน่อต่อไป รวมระยะเวลาที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในห้องปฏิบัติการประมาณ 7 เดือน และทำการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารใหม่ 7 ครั้ง

คำนิยามศัพท์

แคลลัส (callus) หมายถึงกลุ่มเนื้อเยื่อสีขาว ซึ่งมีรูปร่างไม่แน่นอน มีลักษณะคล้ายกับการอวบน้ำ เป็นพวก parenchyma เซลล์ พืชสร้างแคลลัสขึ้นเพื่อช่วยป้องกันมิให้เน่าง่าย เพราะอาจช่วยดูดน้ำหรือความชื้นไว้ได้บ้าง

ตายอด (apical bud) หมายถึงตาซึ่งอยู่ปลายสุดของหน่อกล้วย แต่ละหน่อจะมีตายอดเพียง 1 ตา

ตาข้าง (axillary bud) หมายถึงตาซึ่งแทรกอยู่ระหว่างซอกของกาบกล้วย แต่ละกาบที่ห่อหุ้มเป็นต้นกล้วย ดังนั้นจึงมีได้หลายตา

วิธีการตัดชิ้นส่วน หมายถึงวิธีที่ใช้ปฏิบัติ ในการตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหน่อกล้วยครั้งแรก เพื่อนำลงเลี้ยงบนอาหารในขวด สำหรับงานวิจัยครั้งนี้ใช้ 3 วิธีการคือ

วิธีที่ 1 (TP) ทำการลอกกาบหน่อกล้วย จนกระทั่งเหลือเฉพาะตายอดจริงๆ มีลักษณะคล้ายปลายดินสอ แล้วตัดตายอดนั้นวางลงบนอาหารในขวดที่เตรียมไว้

วิธีที่ 2 (TPp) ทำการลอกกาบหน่อกล้วย แต่ให้บริเวณปลายยอดเหลือกาบหุ้มอยู่ ตัดตายอดซึ่งมีกาบหุ้มอยู่นั้นให้มีขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร วางลงบนอาหารในขวดที่เตรียมไว้

วิธีที่ 3 (TX) ทำเหมือนวิธีที่ 2 แต่ผ่าชิ้นส่วนที่ตัดแล้วออกเป็น 4 ชิ้น แต่ละชิ้นพยายามให้มีตาข้างอยู่ด้วย วางลงบนอาหารในขวดที่เตรียมไว้เช่นกัน

การตัดแบ่งเนื้อเยื่อเพื่อเปลี่ยนอาหารใหม่ (sub culture) หมายถึงการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหน่อกล้วย ที่เพาะเลี้ยงไว้นานประมาณ 4 สัปดาห์ ออกเป็นหลายชิ้นตามความเหมาะสม สำหรับนำลงเลี้ยงบนอาหารขวดใหม่ เพื่อเพิ่มปริมาณหน่อให้มากขึ้น

การเจริญพัฒนา หมายถึงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่ได้เพาะเลี้ยงไว้ มีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม เช่น การขยายขนาด การแตกตา แตกหน่อ แตกใบ เป็นต้น

สัญญลักษณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

TP หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยด้วยตายอด

TPp หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยด้วยตายอดที่มีกาบหุ้ม

TX หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยด้วยการตัดแบ่งตายอดเป็น 4 ชิ้น

สูตร I หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยด้วยอาหารสูตรที่ I

สูตร II หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยด้วยอาหารสูตรที่ II

สูตร III หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยด้วยอาหารสูตรที่ III

$TP_{20}I$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยโดยการใช้ตายอด กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดเล็ก สูงเฉลี่ยประมาณ 20 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ I

$TP_{20}II$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยโดยการใช้ตายอด กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดเล็ก สูงเฉลี่ยประมาณ 20 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ II

$TP_{20}III$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยโดยการใช้ตายอด กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดเล็ก สูงเฉลี่ยประมาณ 20 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ III

$TP_{50}I$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยโดยการใช้ตายอด กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดปานกลาง สูงเฉลี่ยประมาณ 50 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ I

$TP_{50}II$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยโดยการใช้ตายอด กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดปานกลาง สูงเฉลี่ยประมาณ 50 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ II

$TP_{50}III$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยโดยการใช้ตายอด กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดปานกลาง สูงเฉลี่ยประมาณ 50 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ III

$TP_{70}I$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยโดยการใช้ตายอด กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดใหญ่ สูงเฉลี่ยประมาณ 70 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ I

$TP_{70}II$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยโดยการใช้ตายอด กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดใหญ่ สูงเฉลี่ยประมาณ 70 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ II

$TP_{70}III$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยโดยการใช้ตายอด กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดใหญ่ สูงเฉลี่ยประมาณ 70 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ III

$TPp_{20}I$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยโดยการใช้ตายอดที่มีกาบหุ้ม กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดเล็ก สูงเฉลี่ยประมาณ 20 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ I

$TPp_{20}II$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย โดยการใช้ตายอดที่มีกาบหุ้ม กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดเล็ก สูงเฉลี่ยประมาณ 20 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ II

$TPp_{20}III$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย โดยการใช้ตายอดที่มีกาบหุ้ม กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดเล็ก สูงเฉลี่ยประมาณ 20 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ III

$TPp_{50}I$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยโดยการใช้ตายอดที่มีกาบหุ้ม กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดปานกลาง สูงเฉลี่ยประมาณ 50 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ I

$TPp_{50}II$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย โดยการใช้ตายอดที่มีกาบหุ้ม กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดปานกลาง สูงเฉลี่ยประมาณ 50 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ II

$TPp_{50}III$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย โดยการใช้ตายอดที่มีกาบหุ้ม กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดปานกลาง สูงเฉลี่ยประมาณ 50 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ III

$TPp_{70}I$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยโดยการใช้ตายอดที่มีกาบหุ้ม กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดใหญ่ สูงเฉลี่ยประมาณ 70 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ I

$TPp_{70}II$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย โดยการใช้ตายอดที่มีกาบหุ้ม กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดใหญ่ สูงเฉลี่ยประมาณ 70 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ II

$TPp_{70}III$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย โดยการใช้ตายอดที่มีกาบหุ้ม กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดใหญ่ สูงเฉลี่ยประมาณ 70 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ III

$TX_{20}I$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยโดยตัดแบ่งตายอดเป็น 4 ชิ้น กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดเล็ก สูงเฉลี่ยประมาณ 20 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ I

$TX_{20}II$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยโดยตัดแบ่งตายอดเป็น 4 ชิ้น กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดเล็ก สูงเฉลี่ยประมาณ 20 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ II

$TX_{20}III$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยโดยตัดแบ่งตายอดเป็น 4 ชิ้น กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดเล็ก สูงเฉลี่ยประมาณ 20 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ III

$TX_{50}I$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยโดยตัดแบ่งตายอดเป็น 4 ชิ้น กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดปานกลาง สูงเฉลี่ยประมาณ 50 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ I

$TX_{50}II$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยโดยตัดแบ่งตายอดเป็น 4 ชิ้น กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดปานกลาง สูงเฉลี่ยประมาณ 50 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ II

$TX_{50}III$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยโดยตัดแบ่งตายอดเป็น 4 ชิ้น กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดปานกลาง สูงเฉลี่ยประมาณ 50 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ III

$TX_{70}I$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยโดยตัดแบ่งตายอดเป็น 4 ชิ้น กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดใหญ่ สูงเฉลี่ยประมาณ 70 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ I

$TX_{70}II$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยโดยตัดแบ่งตายอดเป็น 4 ชิ้น กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดใหญ่ สูงเฉลี่ยประมาณ 70 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ II

$TX_{70}III$ หมายถึงการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยโดยตัดแบ่งตายอดเป็น 4 ชิ้น กับหน่อกล้วยซึ่งมีขนาดใหญ่ สูงเฉลี่ยประมาณ 70 เซนติเมตร ด้วยอาหารสูตรที่ III

การพิจารณาข้อมูลเชิงปริมาณ

ลักษณะการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ (หน่วย : ซม.)

< 0.5	=	คงที่
0.5 - 1.0	=	เล็กน้อย
1.1 - 1.5	=	ปานกลาง
1.6 - 2.0	=	ค่อนข้างมาก
2.1 - 2.5	=	มาก
> 2.5	=	มากที่สุด

การให้ค่าน้ำหนัก

0	=	คงที่
1	=	เล็กน้อย
2	=	ปานกลาง
3	=	ค่อนข้างมาก
4	=	มาก
5	=	มากที่สุด

การตรวจเอกสาร

กล้วยน้ำว้า

ชื่อวิทยาศาสตร์ ***Musa*** (ABB group) **'Kluai Nam Wa '** ประเทศไทยปลูกกล้วยกันมากแทบทุกครัวเรือน โดยปลูกในที่ดินซึ่งว่างบริเวณหลังบ้านหรือข้างบ้าน ตามหลักฐานที่ปรากฏ กล้วยมีกำเนิดในแถบประเทศเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แต่ปัจจุบันมีปลูกทั่วไปในเขตอากาศร้อนชื้น เช่น ประเทศในแถบอเมริกากลาง อเมริกาใต้ และออสเตรเลีย กล้วยเป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางอาหาร แทบทุกส่วนสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ การปลูกง่าย เจริญเติบโตเร็ว ได้ผลผลิตในระยะเวลาสั้น ประเทศไทยพบกล้วยทั่วไปตามป่าเขา แต่ที่นิยมปลูกและรู้จักกันมากได้แก่ กล้วยหอมทอง กล้วยน้ำว้า กล้วยไข่ กล้วยหอมเขียว กล้วยหอมค่อม กล้วยหอมจันทร์ กล้วยหักมุก กล้วยไข่ฝรั่ง กล้วยเล็บมือนาง กล้วยนาก และกล้วยตานี เป็นต้น (เบญจมาศ และ O.L Gamborg, 2529 ; นพรัตน์, 2536) ปัจจุบันกล้วยซึ่งมีขายกันในตลาดนั้น พัฒนามาจากกล้วยป่าใน section Eumusa โดยเปลี่ยนแปลงจากกล้วยที่มีเมล็ดจำนวนมาก เป็นกล้วยที่ไม่มีเมล็ด ด้วยวิธีการ parthenocarpy และเกิดการเป็นหมันด้วย จึงทำให้กล้วยมีคุณค่ามากยิ่งขึ้น เพราะสะดวกในการรับประทาน ได้มีการนำไปปลูกต่อๆกันไปเมื่อพบว่าต้นใดดี มีรสชาติอร่อย ไม่มีเมล็ด ทนต่อโรค แมลง มีความแข็งแรง จะทำการขยายพันธุ์กล้วยต้นนั้นต่อๆกันไป เพราะกล้วยมีการขยายพันธุ์ง่ายโดยการแยกหน่อ จึงทำให้การกระจายพันธุ์เป็นไปได้อย่างรวดเร็ว (เบญจมาศ, 2534)

ในการสำรวจพันธุ์กล้วยของประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2522 - 2525 Silayoi และ Babpraserth (1983) รายงานไว้ว่า ได้ทำการเก็บรวบรวมพันธุ์กล้วยจาก 39 จังหวัด ในภาคต่างๆของประเทศ โดยเลือกตัวแทนของจังหวัดตามแนวเศรษฐกิจการเกษตร พบว่ามีกล้วยทั้งหมด 323 สายพันธุ์ เมื่อนำมาทำการจำแนกชนิดด้วยวิธีของ Simmonds และ Shepherd (1955) ตรวจนับจำนวนโครโมโซม

ปรากฏว่ามี 59 พันธุ์ จึงนำมาศึกษาชื่อพ้อง (เพราะการเรียกชื่อกล้วยตามจังหวัดต่างๆนั้นบางครั้งอาจไม่เหมือนกัน) ปรากฏว่ากล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง จัดอยู่ในประเภทกล้วยกินได้ลูกผสม (acuminata x balbisiana) กลุ่ม ABB ลำดับที่ 53 ชื่อทั่วไปคือกล้วยน้ำว้าขาว ชื่อพ้องคือ กล้วยมะลิอ่อง (จันทบุรี) ชื่อสามัญ Pisang Awak

กล้วยเป็นพืชยืนต้นที่มีอายุหลายฤดู มีลำต้นที่แท้จริงอยู่ใต้ดิน เรียกว่าหัวหรือเหง้า (corm หรือ rhizome) ส่วนที่โผล่ขึ้นมาเหนือดินนั้นเรียกว่า "ลำกล้วย" (pseudostem) หรือลำต้นเทียม ส่วนนี้ประกอบด้วยกาบใบที่ประกบกันแน่น เพื่อพยุงใบและส่วนที่จะเป็นเครือภายหลัง สูงไม่เกิน 3.5 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 15 เซนติเมตร กาบลำต้นด้านนอกสีเขียวอ่อนมีประดำเล็กน้อย ด้านในสีเขียวอ่อนก้านใบมีร่องค่อนข้างแคบ เส้นกลางใบสีเขียว ก้านช่อดอกไม่มีขน ใบประดับรูปไข่ค่อนข้างป้อม ม้วนงอขึ้น ปลายป้าน ด้านบนสีแดงอมม่วงมีนวล ด้านล่างสีแดงเข้ม เครือหนึ่งมี 7-10 หวี หวีหนึ่งมี 10-16 ผล ผลใหญ่กว่ากล้วยไข่ กว้าง 3-4 เซนติเมตร ยาว 11-13 เซนติเมตร มีเหลี่ยม ก้านผลยาว ผลมีความยาวใกล้เคียงกับกล้วยไข่ เปลือกหนากว่ากล้วยไข่ เมื่อสุกเปลี่ยนเป็นสีเหลืองปนน้ำตาล เนื้อสีขาว รสหวาน ที่แกนกลางหรือเรียกว่าไส้กลาง มีสีเหลือง ชมพู หรือขาว ซึ่งทำให้แบ่งออกได้เป็นกล้วยน้ำว้าเหลือง กล้วยน้ำว้าแดง และ กล้วยน้ำว้าขาว

การขยายพันธุ์กล้วยน้ำว้า

กล้วยเป็นพืชที่ขยายพันธุ์โดยการไม่ใช้เพศมากกว่าการใช้เมล็ด ดังนั้นลักษณะของความแปรปรวนที่พบในสายพันธุ์ของกล้วยจึงน้อยมาก ส่วนใหญ่จะเกิดการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ (spontaneous mutation) การขยายพันธุ์กล้วยมีหลายวิธี เช่น การชำหน่อกล้วย การตัดยอดลำต้นเพื่อให้ต้นแม่สามารถผลิตหน่อเพิ่มขึ้น การขุดหน่อทุก 2 เดือน การขุดเหง้านำมากรีดจุดเจริญแล้วนำไปเพาะชำใหม่ ซึ่งมักใช้เวลานาน เสี่ยง

ต่อการเกิดโรคและแมลงเข้าทำลาย หน่อที่ได้มีขนาดไม่สม่ำเสมอ (สุภัทรา, 2533 ; ศิริลักษณ์, 2533) ส่วนต่างๆของกล้วยที่ใช้ขยายพันธุ์ มีหลายอย่างดังนี้คือ

1. **เมล็ด** การขยายพันธุ์โดยวิธีนี้ไม่เป็นที่นิยม เพราะกล้วยส่วนใหญ่ไม่มีเมล็ด นอกจากต้องการปรับปรุงพันธุ์กล้วย ซึ่งต้องนำพันธุ์ต่างๆมาผสมกันเพื่อให้ได้พันธุ์ใหม่ที่ดี จึงต้องนำเมล็ดมาเพาะ แต่ต้องใช้ระยะเวลานาน (26-38 วัน) จึงงอก ถ้าต้องการให้งอกเร็ว อาจใช้วิธีแคะเอาคัพภะ (embryo) ออกมาเพาะ โดยวิธีเอ็มบริโอคัลเจอร์ (embryo culture) คล้ายกับการเพาะเลี้ยงคัพภะของกล้วยไม้ โดยเลี้ยงในอาหารวุ้นพิเศษ วิธีการนี้เมล็ดสามารถงอกได้ร้อยละ 50

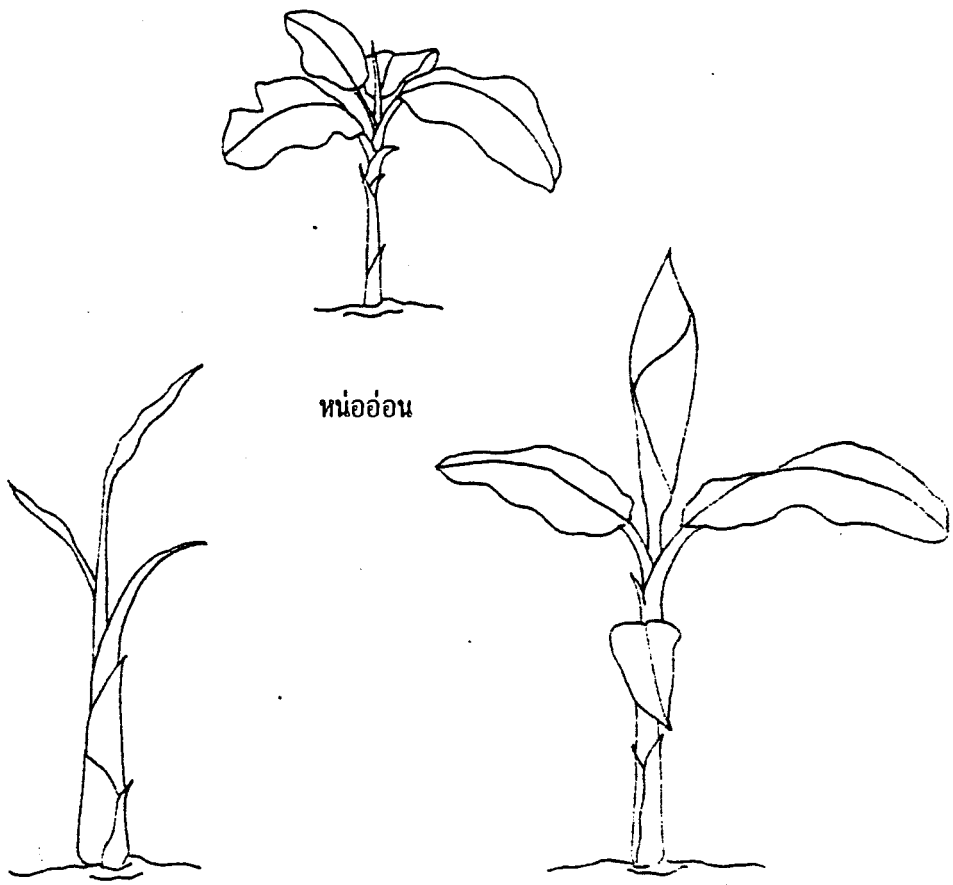
2. **หน่อ** เป็นวิธีที่นิยมขยายพันธุ์กันโดยทั่วไป เพราะตามปกติสวนกล้วยมีหน่อกล้วยในปริมาณมาก จึงเพียงแต่ขุดหน่อที่แตกออกมาจากต้นแม่มาปลูกใหม่ก็ใช้ได้ วิธีการขุดหน่อหรือแยกหน่อออกจากต้นแม่ขึ้นมานั้น พยายามตัดหน่ออ่อนให้ชิดกับเหง้าของต้นแม่ และอย่าให้กระทบกระเทือนต้นแม่ หน่อที่กิดจากต้นแม่มี 3 ชนิด คือ

2.1 หน่ออ่อน (peeper) คือหน่อซึ่งเกิดจากต้นแม่ แต่มีขนาดเล็ก อายุน้อยมาก ยังมีส่วนต่างๆไม่ครบ อ่อนแอ ไม่เหมาะในการนำไปปลูก

2.2 หน่อใบแคบหรือหน่อใบดาบ (sword sucker) เป็นหน่อซึ่งเกิดจากลำต้นแม่ มีใบบ้างแต่เรียวเล็กยังไม่คลี่ใหญ่ เป็นหน่อที่ดี เหมาะในการนำไปปลูก เพราะจะให้ต้นที่แข็งแรงและผลผลิตดี

2.3 หน่อใบกว้าง (water sucker) เป็นหน่อซึ่งเกิดจากต้นที่เก็บเกี่ยวผลผลิตแล้ว หรือจากที่ตัดแล้ว หรือจากหน่อใบแคบ แต่ส่วนมากเป็นหน่อซึ่งเกิดจากตาของเหง้ากล้วยที่อยู่ใกล้ผิวดิน หน่อพวกนี้แม้จะมีขนาดเล็กแต่มีใบบ้าง เป็นใบที่โตคลี่แผ่กว้างคล้ายใบจริง ไม่เหมาะในการนำไปปลูก ถ้าพบอยู่ติดกับต้นแม่ควรทำลายเสีย ถ้านำหน่อชนิดนี้ไปปลูกจะได้ต้นที่อ่อนแอ และผลมีขนาดเล็ก

3. **เหง้า** (corm) เป็นเหง้าหน่อที่โตแล้ว แต่ยังไม่ตกผล ตัดยอดหรือ



ภาพที่ 1 ลักษณะของหน่อกล้วยแบบต่างๆ จำนวน 3 ลักษณะ

ที่มา : เบญจมาศ (2534)

ลำกล้วยออกแล้วจึงใช้เหง้าปลูก

4. ตา (bud) เหง้าของหน่อที่ตกผลแล้วหรือยังไม่ตกผล ถ้ามีขนาดใหญ่พอจะมีอยู่หลายตา ตัดเป็นชิ้นๆได้ แต่ละชิ้นให้มีตาที่ยังไม่ตกผลอยู่ 1-2 ตา

5. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (tissue culture)

ในรายงานของ ประภาสินี (2529) ได้กล่าวถึงการขยายพันธุ์กล้วยไว้ว่า วิธีการแยกหน่อหรือชำเหง้านั้น พบว่ามีอัตราการเพิ่มปริมาณเป็น 10 เท่าในเวลา 1 ปี แม้จะมีรายงานของ Barker (1959) กล่าวว่าสามารถเพิ่มปริมาณได้ 20 เท่า หรือของ Small (1961) ขยายเพิ่มได้ 50 เท่า และของ Hamilton (1965) ขยายเพิ่มได้ถึง 150 เท่าก็ตาม การขยายพันธุ์กล้วยโดยวิธีแยกหน่อ จะขยายพันธุ์ได้ช้าได้จำนวนต้นน้อย โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าเป็นพื้นที่ปลูกขนาดใหญ่ จะทำให้เกิดปัญหาในการผลิตคือ หน่อที่จะใช้ปลูกไม่เพียงพอกับความต้องการ นอกจากนั้นการใช้หน่อจากต้นแม่มักมีความแตกต่างกันด้านความแข็งแรงของแต่ละหน่อ และถ้าต้นแม่เลี้ยงหน่อมากเกินไป จะทำให้ต้นแม่มีผลผลิตต่ำ คุณภาพลดลง หน่อที่ได้จะให้ผลผลิตไม่สม่ำเสมอ ทำให้การผลิตเป็นไปอย่างไม่ต่อเนื่อง จำนวนไม่เพียงพอที่จะทำเป็นการค้า และหน่อที่นำไปใช้ปลูกนั้นไม่สามารถคัดเลือกให้มีขนาดเท่ากันทุกหน่อ จึงส่งผลให้การให้ผลไม่พร้อมกัน มีปัญหาด้านการเก็บเกี่ยว (ปาริชาต, 2526; สมศักดิ์, 2532 ; Cronauer and Krikorian, 1984 ; Damasco and Barba, 1984)

โดยทั่วไปชาวสวนของประเทศไทย นิยมใช้หน่อใบแคบปลูก เพราะหาง่ายและสะดวกกว่าอย่างอื่น เวลาเลือกหน่อควรเลือกจากต้นที่แข็งแรง หน่อที่ไม่เป็นโรค ถ้าเป็นกล้วยน้ำว้าใช้หน่อสูง 60-70 เซนติเมตร แต่ถ้าเป็นกล้วยไข่หรือกล้วยหอมใช้หน่อสูงขนาด 30-45 เซนติเมตร หน่อกล้วยที่ขุดขึ้นมาพยายามอย่าให้เกิดความชอกช้ำ เวลาขุดอย่าจับหน่อโยกให้กระทบกระเทือน เพราะไส้จะเป็นอันตราย เมื่อขุดขึ้นมาแล้วใช้มีดปาดรากออกให้เกลี้ยง เพื่อต้องการให้รากใหม่ออกมาแทนรากเก่าจะมีความแข็งแรงดีกว่า

(นพรัตน์, 2536)

การทำแปลงขยายพันธุ์กล้วย อาจใช้ระยะเดียวกับการปลูกเพื่อเก็บผลผลิต คือ ใช้ระยะ 1x2 หรือ 2x2 หรือ 2x3 หรือ 3x3 เมตร พยายามป้องกันช่อดอกที่จะออก โดยการตัดลำต้นเทียมเหนือดินประมาณ 50 เซนติเมตร เอากาบใบที่อยู่ด้านนอกออก เพื่อให้ตาที่อยู่ภายในได้รับแสง ให้ปุ๋ยไนโตรเจนต้นละ 30-60 กรัม ทุกสัปดาห์ เพื่อเร่งให้การแตกหน่อเร็วขึ้น เมื่อหน่อแตกออกมามีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 15 เซนติเมตร โดยวัดที่ระดับเหนือดิน 15 เซนติเมตร ก็สามารถตัดหน่อนั้นออกไปปลูกได้ การขยายพันธุ์โดยวิธีนี้จะทำให้ได้หน่อ 8-10 หน่อต่อต้นต่อปี ดังนั้นภายใน 1 ปี ถ้าขยายพันธุ์จากต้นตอ 1,000 ต้น จะได้หน่อใหม่ทั้งสิ้นประมาณ 8,000-10,000 ต้น ในการทำแปลงขยายพันธุ์กล้วยวิธีนี้ อาจใช้กับแปลงที่เก็บเกี่ยวผลผลิตแล้ว ถ้าจำนวนหน่อที่ได้ไม่เพียงพอ อาจขุดลำต้นหรือเหง้าของต้นแม่ขึ้นมาแล้วผ่าออกเป็นชิ้นๆ โดยให้แต่ละชิ้นมีตา ซึ่งพร้อมจะแตกเป็นต้นใหม่ หลังจากนั้นฝังชิ้นส่วนเหล่านี้ในทรายลึกประมาณ 30เซนติเมตร ตาที่อยู่บนชิ้นส่วนเหล่านี้จะแตกเจริญเป็นต้นใหม่ สามารถนำไปปลูกได้เมื่อมีขนาดเหมาะสม (เบญจมาศ, 2534)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สามารถนำมาใช้ขยายพันธุ์พืชซึ่งปกติขยายพันธุ์ได้ช้ามาก เช่น พืชที่ขยายพันธุ์โดยการปักชำ การตอน การติดตา การทาบกิ่ง ราก ไหล ลำต้น ฯลฯ หรือแม้แต่ในพืชที่ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ซึ่งเมื่อใช้เมล็ดเพาะแล้วมีความผันแปรมาก ทำให้ได้ลักษณะที่ไม่ตรงตามพันธุ์ เนื่องจากผสมข้ามตามธรรมชาติได้ การนำเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ ทำให้สามารถเพิ่มจำนวนพืชได้อย่างรวดเร็ว การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีส่วนสำคัญอย่างยิ่ง ในการทำให้เกิดอุตสาหกรรมการผลิตพันธุ์พืชหลายชนิด เช่น มันฝรั่ง กล้วยไม้ และกล้วย เป็นต้น

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายด้าน โดยเฉพาะในแง่การปรับปรุงพันธุ์พืช ได้แก่

1. เพื่อรักษาแหล่งพันธุกรรม ทำให้สามารถเก็บรักษาเชื้อพันธุ์ไว้ได้เป็นจำนวนมาก

2. การกำจัดโรคที่ติดมากับเชื้อพันธุ์ และการแลกเปลี่ยนเชื้อพันธุ์ระหว่างประเทศ

3. ช่วยในการขยายพันธุ์พืชเพื่อให้ได้จำนวนมากๆ

4. การเชื่อมโปรโตพลาสต์เข้าด้วยกัน เพื่อใช้ในการผสมระหว่างพืชต่างชนิดและต่างสกุล

5. การสร้างพืชโครโมโซมชุดเดียว

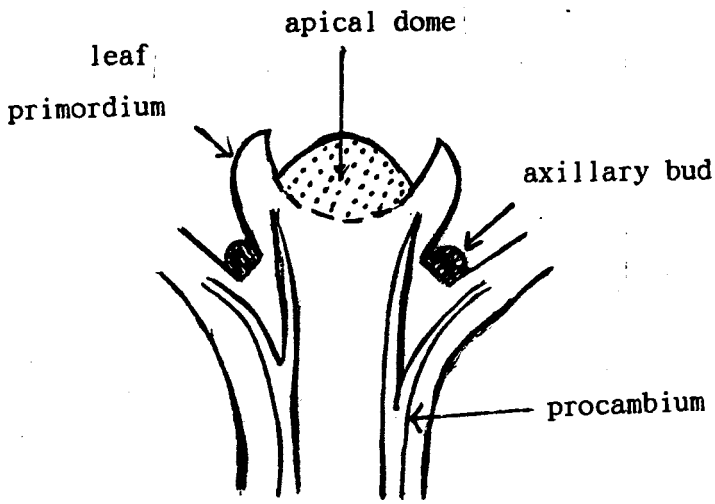
6. การสร้างพืชทรานสเจนิก

7. การได้ลักษณะที่เป็นประโยชน์ จากการแปรพันธุ์ทางพันธุกรรม เนื่องจากการเพาะเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อ

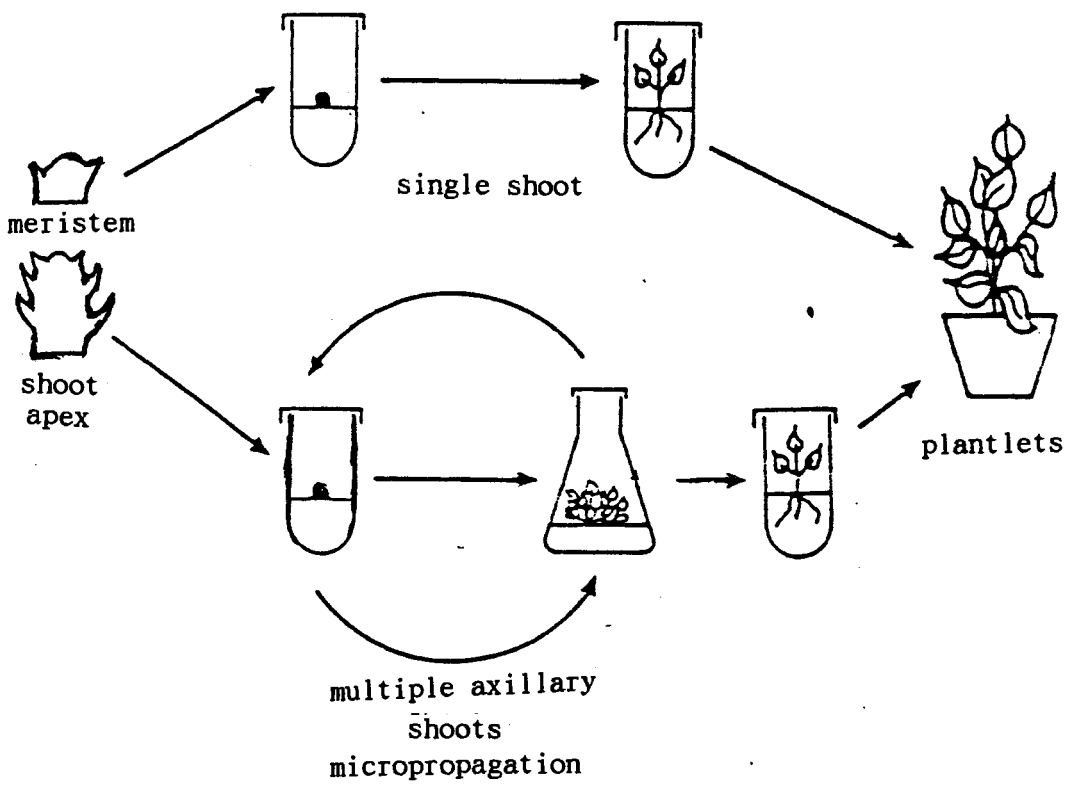
8. การใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อช่วยในการคัดเลือก

วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สิรินุช (2536) ได้กล่าวว่าแบ่งออกเป็น 5 วิธีการใหญ่ๆคือ

1. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญ** (meristem culture) ได้แก่การนำเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดที่ประกอบด้วยตายอด (apical bud) และตาข้าง (axillary bud) เนื้อเยื่อเจริญมีลักษณะเป็นรูปโดม (dome) ถูกห่อหุ้มไว้ด้วยใบอ่อน (leaf primordium) หรือเกล็ดหุ้มตา (scale) เมื่อตัดแยกออกมาเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งหรืออาหารเหลว ประกอบด้วยสารอาหารที่จำเป็นสำหรับการเพิ่มจำนวนตายอดและการเกิดราก โดยปกติใช้ไซโตไคนินในปริมาณค่อนข้างสูง (10-30 มิลลิกรัมต่อลิตร) กระตุ้นให้เกิดการแตกตา และมีการพัฒนาเป็นยอด (shoot) ที่สมบูรณ์ต่อไป



ปลายยอดของพืช



ภาพที่ 2 ลักษณะปลายยอดของพืช และลำดับขั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญ

ที่มา : ดัดแปลงจาก สิรินุช (2536)

2. **การเพาะเลี้ยงส่วนของพืช** (organ culture) ได้แก่การนำส่วนของพืช เช่น ราก ยอด แกนคัพภะ (embryo axis) อับละอองเรณู (anther) ไมโครสปอร์ รังไข่ ไข่ ฯลฯ มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งกึ่งเหลว หรืออาหารเหลว ภายในสภาวะที่เหมาะสมมีการพัฒนาต่อไปได้

3. **การเพาะเลี้ยงแคลลัส** (callus culture) เป็นการนำชิ้นส่วนของพืช เช่น ลำต้น ราก ใบ ใบเลี้ยง เนื้อเยื่อสืบพันธุ์และอื่นๆ นำมาเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ ทำให้เซลล์แบ่งตัว เพิ่มจำนวนเป็นกลุ่มเซลล์ เรียกว่าแคลลัส และสามารถเลี้ยงแคลลัสให้อยู่ในสภาพนี้ไปได้เป็นเวลานาน โดยตัดแยกเลี้ยงบนอาหารใหม่ เซลล์แคลลัสนี้เมื่อมีการปรับเปลี่ยนสมดุล และสัดส่วนของฮอร์โมนในอาหารให้เหมาะสม ทำให้แคลลัสกลับสภาพไปเป็นโครงสร้างหรือส่วนต่างๆของพืชได้ เช่น เปลี่ยนไปเป็นยอด ราก ตายอด หรือคัพภะได้ โดยพัฒนาผ่านกระบวนการออร์แกนโนเจเนซิส และเอ็มบริโอเจเนซิส

4. **การเพาะเลี้ยงเซลล์แขวนลอย** (cell suspension culture) ทำได้โดยการย้ายส่วนของพืช หรือก้อนแคลลัส ลงเลี้ยงบนอาหารเหลวที่อยู่ในขวดเลี้ยง หรือในหลอดทดลอง ซึ่งวางบนเครื่องเขย่า (shaker) หรือล้อหมุน เพื่อให้เซลล์กระจายตัว มีการแลกเปลี่ยนแก๊ส เซลล์แขวนลอยประกอบด้วยกลุ่มเซลล์ที่มีขนาดต่างๆกัน และรวมทั้งเป็นเซลล์เดี่ยวๆด้วย โดยปกติการเลี้ยงเซลล์ในสภาพแขวนลอย จะมีอัตราการเจริญเติบโตมากกว่าการเลี้ยงในสภาพกึ่งแข็ง เนื่องจากทุกๆเซลล์สัมผัสกับอาหารทั่วถึงกัน เซลล์ในสภาพแขวนลอยเป็นแหล่งสำคัญในการให้ต้นพืช โดยผ่านกระบวนการออร์แกโนเจเนซิส หรือเอ็มบริโอเจเนซิส การเลี้ยงแคลลัสหรือเซลล์แขวนลอยเป็นเวลานานๆ จะทำให้คุณสมบัติในการพัฒนาเป็นต้นพืชน้อยลง

5. **การเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์** (protoplast culture) โปรโตพลาสต์ คือเซลล์เปลือย (naked) ที่ไม่มีผนังเซลล์ห่อหุ้ม มีคุณสมบัติในการ

สร้างผนังเซลล์ และมีการแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนได้ โปรโตพลาสต์แยกออกมาเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อจากเซลล์เพาะเลี้ยง หรือจากเนื้อเยื่อพืชโดยตรง เมื่อแยกโปรโตพลาสต์มาแล้ว นำมาเพาะเลี้ยงให้เกิดการแบ่งเซลล์ เพิ่มจำนวนเป็นโคโลนีเล็กๆ และสามารถพัฒนาเป็นต้นพืชได้

การขยายพันธุ์กล้วยด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ปัจจุบันนี้มีการนำเทคโนโลยีชีวภาพเข้ามาใช้ เพื่อช่วยย่นระยะเวลาการคัดเลือกพันธุ์พืชที่ต้องการได้ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและเซลล์พืช นับเป็นเทคนิคพื้นฐานที่สำคัญยิ่งอย่างหนึ่งในทางเทคโนโลยีชีวภาพ ต่อมามีการพัฒนาวิธีการ จนกระทั่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ และผลิตพันธุ์ดีต่างๆ เพื่อทำเป็นการค้าได้อย่างแพร่หลาย (Halling, 1965 ; Nakajima. 1985) กล้วยเป็นพืชชนิดหนึ่งซึ่งสามารถนำมาขยายพันธุ์ ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ โดยมีจุดประสงค์สำคัญ 2 ประการคือ

1. เพื่อเพิ่มจำนวนต้นให้ได้มาก ในระยะเวลาอันรวดเร็ว

2. เพื่อให้ได้ต้นที่สะอาด ปราศจากโรค โดยเฉพาะไวรัส ซึ่งถ้าขยายพันธุ์โดยใช้หน่อ เชื้อโรคอาจติดมาได้

การขยายพันธุ์กล้วยด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในประเทศไทย เริ่มทำมาตั้งแต่ พ.ศ. 2517 โดย Berg และ Bustamante ใช้ส่วนของเนื้อเยื่อเจริญ ที่อยู่บริเวณปลายยอดของลำต้น ชิ้นส่วน (explants) ซึ่งนิยมนำมาขยายพันธุ์ที่ดีคือจุดเจริญของเนื้อเยื่อ ได้แก่

1. หน่อ หรือลำต้นที่มีตากำลังเจริญ ส่วนใหญ่มักนิยมใช้หน่อซึ่งแตกออกมาแล้ว โดยเฉพาะหน่อใบแคบ เป็นหน่อที่ใช้แล้วได้ผลดี สำหรับตาที่กำลังเจริญนั้น ก็สามารถนำมาใช้ได้เช่นกัน แต่ไม่ค่อยนิยมเพราะทำยากกว่า

2. ดอกตัวผู้หรือหัวปลี ปกติส่วนนี้มักถูกตัดทิ้ง แต่เป็นส่วนขยายพันธุ์ที่ดี

หอสมุดสถาบันราชภัฏพิบูลสงคราม
พิษณุโลก

เพราะอยู่เหนือพื้นดิน ไม่ได้รับเชื้อโรคซึ่งมีอยู่ในดิน

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สามารถทำการศึกษาได้จากจำนวนประชากรมากมายนับล้าน ภายในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทำให้มีโอกาสขยายพันธุ์กล้วยได้ปริมาณมากในเวลาอันรวดเร็ว หน่อที่ได้มีลักษณะตรงตามพันธุ์ สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมในแปลงได้ดี มีการเจริญเติบโตที่สม่ำเสมอ ให้ผลผลิตเหมือนต้นที่ขยายพันธุ์ด้วยหน่อธรรมดา มีอายุเก็บเกี่ยวพร้อมกัน รวมทั้งยังช่วยลดต้นทุนในการใช้พื้นที่ปลูกด้วย (ปาริชาต,2526; พรทิพย์ และคณะ , 2529 ; Hwang และ Ko, 1986)

เบญจมาศ (2534) ให้ความเห็นสนับสนุนในทำนองเดียวกันนี้ว่า ได้มีการทดลองใช้ต้นพันธุ์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในประเทศอินเดีย พบว่าต้นที่ได้มีการเจริญเติบโตเร็วกว่า แข็งแรงกว่า ให้ผลผลิตสูงและเร็วกว่าต้นซึ่งปลูกจากหน่อ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะต้นที่ได้ไม่มีเชื้อโรคและแมลงติดมา จึงส่งผลให้การเจริญเติบโตดี ต้นแข็งแรงและให้ผลผลิตดีในที่สุด Krikorian และ Cronauer (1984) ได้รายงานถึงความเป็นไปได้ในการใช้วิธีการปรับปรุงพันธุ์กล้วยให้ต้านทานโรค Black Sikatoka ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงปลายยอด การเพาะเลี้ยงเซลล์ และการเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์ร่วมกับการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ (อ้างโดย ประภาสินี, 2529) นอกจากนี้การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ยังเป็นวิธีที่สามารถผลิตต้นพันธุ์ได้ตลอดปี แม้การขยายพันธุ์กล้วยโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะมีข้อดี แต่ข้อเสียก็มีด้วย กล่าวคือ กล้วยเป็นพืชที่พบว่ามีการกลายพันธุ์เกิดขึ้นตามธรรมชาติ ดังนั้นเมื่อนำหน่อกล้วยมาขยายพันธุ์ให้ได้จำนวนมากจากหน่อเพียงหน่อเดียว ก็อาจเกิดการกลายพันธุ์ได้บ้าง ลักษณะที่เกิดขึ้นอาจเกิดได้ที่ตัวลำต้น จึงทำให้มีความสูงเพิ่มขึ้นหรือลดลง เช่นใบอาจจะด่างหรือแคบลง มีไขมาก สีของโคนกาบใบเปลี่ยนไป เครืออาจเล็กลง ผลสั้น มีขน ปลีรูปร่างเรียวเล็กลง แต่ส่วนใหญ่ลักษณะที่เกิดขึ้นเห็นได้ชัดจะเป็นต้นอ่อน คือมีลักษณะเป็นต้นแคระ ต้นอวบน้ำ ใบสั้น ส่วนใหญ่พวกนี้มักตายไป โดยขั้นแรกจะค่อยๆเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล แล้วตายในที่สุด

3 631.53 น721ค
114166

แต่บางครั้งอาจกลับมีการแตกหน่อขึ้นมาใหม่ได้ หน่อที่พบใหม่อาจมีลักษณะปกติ แต่บางครั้งมีลักษณะแคระเหมือนเดิม เท่าที่พบปรากฏว่าต้นกล้วยไข่ที่ใช้ส่วนยอดขยายพันธุ์ จะมีการกลายพันธุ์ไม่เกินร้อยละ 3 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในประเทศจีน Hwang และ Ko (1986) พบว่าการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากปลายยอดของกล้วย สามารถเกิดการกลายพันธุ์ได้ในกล้วยหอมร้อยละ 3 จากต้นที่ได้ทั้งหมด 46,260 ต้น ลักษณะที่เกิดการผันแปรได้แก่ ลักษณะของลำต้น ใบ และยังพบต้นที่มีความต้านทานต่อโรคตาพรายซึ่งกำลังระบาดอยู่ในขณะนั้นด้วย ความผันแปรหรือการกลายพันธุ์นี้ พบมากในการเพาะเลี้ยงแคลลัส เซลล์ และ โปรโตพลาสต์ มากกว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากปลายยอด (Krikorian, 1986) นอกจากนั้นการขยายพันธุ์จากปลียังพบว่า เกิดการกลายพันธุ์มากกว่าด้วย การกลายพันธุ์จึงเป็นปัญหาอย่างหนึ่งในการขยายพันธุ์ด้วยวิธีนี้ โดยเฉพาะถ้าทำเป็นการค้า แม้ว่าที่ประเทศไต้หวันผลการทดลองจะพบว่ามีการกลายพันธุ์ร้อยละ 3 แต่ที่ประเทศอิสราเอลมีการกลายพันธุ์ถึงร้อยละ 9 และที่ประเทศออสเตรเลีย ได้ทำการทดลองกับพันธุ์วิลเลียม พบว่ามีการกลายพันธุ์มากถึงร้อยละ 21 อย่างไรก็ตามการคัดเลือกระหว่างที่ต้นอ่อนยังอยู่ในขวดหรือในเรือนเพาะชำ เช่น พบลักษณะใบด่าง ใบเล็ก สีลำต้นผิดปกติ ก็สามารถคัดทิ้งได้ แต่ลักษณะใบด่างนั้น ส่วนใหญ่ปรากฏว่าเมื่อต้นโตแล้วลักษณะดังกล่าวจะหายไป การคัดทิ้งก่อนนำไปปลูก จะช่วยลดจำนวนการกลายพันธุ์ลงได้มาก (เบญจมาศ, 2534)

อาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

กรึกและคณะ (2536) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออ้อยในอาหารเหลว ได้รายงานไว้ว่า อาหารเหลวที่ไม่มี BA ปรากฏว่าปลายยอดไม่เจริญ และต่อมาจะกลายเป็นสีดำจนกระทั่งตายไปในที่สุด การเพิ่มระดับความเข้มข้นของ BA ในอาหารเหลวจาก 0.02-0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีแนวโน้มในการชักนำให้เกิดการแตกตาข้างเพิ่มขึ้น แต่เมื่อความเข้มข้นของ BA เพิ่มมากกว่า 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร กลับมีผลทำให้ปลายยอดตายภายใน 15 วัน โดยมีลักษณะสีดำเช่นกัน ในการทดลองชักนำให้ปลายยอดพัฒนาไปเป็นต้นพืช โดยไม่ผ่านแคลลัสครั้งนี้พบว่า ความสมดุลระหว่างไซโตไคนินและออกซิน คือ BA และ NAA มีส่วนสำคัญอย่างยิ่ง ซึ่งสอดคล้องกับ Skoog และ Miller (1957) ที่กล่าวไว้ว่า การที่ปลายยอดจะพัฒนาไปเป็นต้นได้นั้น ขึ้นอยู่กับความสมดุลระหว่างออกซินและไซโตไคนิน โดยอาหารที่มีไซโตไคนินระดับความเข้มข้นสูง และออกซินมีระดับความเข้มข้นต่ำ จะส่งเสริมการเจริญส่วนยอด (Murashige, 1974) ทั้งนี้เนื่องจากไซโตไคนิน มีผลต่อการขยายขนาดของเซลล์ ช่วยการพัฒนาตายอด ดังนั้นถ้าไซโตไคนินสูงจะส่งเสริมให้เกิดการพัฒนาส่วนยอด (Szwevkowska, 1974) นอกจากนั้นปัจจัยสำคัญอีกประการหนึ่งคือแสง ก็มีส่วนสำคัญในการชักนำให้เกิดยอด เนื่องจากแสงมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการพัฒนาเป็นรูปร่างลักษณะของพืช การเกิดต้นและราก (Murashige, 1974, 1977) อย่างไรก็ตามการทดลองครั้งนี้ไม่พบการพัฒนาของยอดอ้อยเป็นหน่อเล็กๆ จำนวนมากตามที่ Tanaka และ Ikeda (1983) ได้รายงานไว้ในการศึกษาต้น Haplopapus gracilis ซึ่งเขาพบว่าอาหารที่มี BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยไม่มี NAA สามารถชักนำให้ปลายยอดพืชเกิดหน่อเล็กๆจำนวนมากได้ แต่อาหาร MS ที่มี NAA และ BA ในอัตราความเข้มข้นต่ำ จะชักนำให้เกิดต้นอ่อน ส่วนอาหารที่มี NAA + BA ระดับความเข้มข้นสูง จะชักนำให้ปลายยอดเกิดแคลลัส

ในการทดลองเพื่อหาสูตรอาหารที่เหมาะสม สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจาก

เมล็ดข้าว 6 พันธุ์ เผดิม และคณะ (2536) พบว่าการชักนำให้เกิดแคลลัสในสภาพที่ได้รับแสงจะดีกว่าในสภาพมืด สูตรอาหารที่ชักนำให้เกิดแคลลัสของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พันธุ์บาสมาติ 370 และพันธุ์ กข. 15 ได้แก่อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคเนติน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนพันธุ์นางมูล S_4 และพันธุ์ประดู่แดง ได้แก่อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ไคเนติน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร อาหารสูตรที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงแคลลัสให้เป็นต้นอ่อน สำหรับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์นางมล S_4 ได้แก่อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 60 นั้น เจริญเป็นต้นอ่อนได้ดีในสูตรอาหาร MS ดัดแปลงที่เติมไคเนติน 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่พันธุ์ กข. 15 เหมาะกับอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติมไคเนติน 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนพันธุ์บาสมาติ 370 และพันธุ์ประดู่แดง เหมาะสมกับอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติมไคเนติน 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย นอกจากฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนินและกลุ่มออกซินแล้ว น้ำมะพร้าวก็เป็นวัสดุอีกชนิดหนึ่ง ที่นับว่าเป็นแหล่งใหญ่ของสารซึ่งมีคุณสมบัติในการแบ่งเซลล์ เพราะมีสารพวก myoinositol 1-3- diphenylurea และ leucoanthocyanin สารเหล่านี้มีความสามารถในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ (ปาริชาต, 2526 ; รวี, 2537) นอกจากนั้นน้ำมะพร้าวยังส่งเสริมให้มีตัพภะ และแคลลัสเกิดขึ้น ซึ่งต่อไปสามารถเจริญเป็นต้นเล็กๆได้ (สุวรรณา, 2520)

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย มักพบเนื้อเยื่อที่มีสีดำ ทั้งนี้เพราะในเนื้อเยื่อกล้วยมีสารประกอบฟีโนลิก (phenolic compound) โดยมีฟีนอลเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ สารนี้เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการสร้างสลาย (metabolism) ของเซลล์ สารประกอบฟีนอลมีความสำคัญ 3 ประการคือ ช่วยป้องกันและยับยั้งการเจริญเติบโตของ

เชื้อรา ทำให้ผลไม้หลายชนิดมีรสฝาด และทำให้เกิดสีน้ำตาลในผัก ผลไม้ ที่ถูกกระทบกระเทือน (จริงแท้ และอัญชลี, 2537) สารประกอบฟีโนลิกที่อยู่ในเนื้อเยื่อกล้วยนี้เมื่อถูกออกซิไดซ์อย่างรวดเร็วจะทำให้เนื้อเยื่อนั้นตายได้ วิธีการป้องกันการออกซิไดซ์ของสารโพลีฟีนอล คือการใช้กรดซิตริก หรือกรดแอสคอร์บิก หรือ activated charcoal ใส่เพิ่มเข้าไปในอาหาร ในการนึ่งด้วยหม้อนึ่งกรดแอสคอร์บิก จะแสดงผลให้เห็นมาก แต่ถ้าใช้ในปริมาณ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีส่วนช่วยป้องกันการออกซิไดซ์ของสารนี้ได้ (Gupta, 1986)

อาหารและฮอร์โมนสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย

เบญจมาศ (2534) กล่าวถึงสูตรอาหาร ที่ประสบผลสำเร็จในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยมากคือ สูตรอาหารของ Murashige และ Skoog (1962) หรือนิยมเรียกว่าอาหารสูตร MS บางครั้งมีการดัดแปลง โดยการเพิ่มสารเคมีบางชนิดลงไป ซึ่งเรียกว่าอาหารสูตร MS ที่ดัดแปลง ปกติเพื่อความสะดวกในการเตรียมอาหาร มักเตรียมเป็นสารละลายเก็บไว้ (stock solution) ปริมาณการใช้คาร์บอน วิตามิน อะมิโนแอซิด และฮอร์โมน อาจมีการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้น ทั้งนี้แล้วแต่ชนิดของกล้วย แต่ปกติมักจะเปลี่ยนแปลงเฉพาะระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน สำหรับฮอร์โมนที่นำมาใช้ได้แก่ BA หรือบางครั้งอาจเพิ่ม IAA, NAA และ IBA ลงไปด้วย ระดับความเข้มข้นมักใช้ประมาณ 1-5 ppm การใช้ BA หรือ BAP เป็นการเพิ่มไซโตไคนินเพื่อให้มีการเกิดหน่อมากขึ้น นอกจากนี้การใช้น้ำมะพร้าวประมาณร้อยละ 15 ต่อปริมาตรจะช่วยทำให้หน่อเกิดมากขึ้นและเจริญได้ดี เพราะในน้ำมะพร้าวมีฮอร์โมนไซโตไคนิน ซึ่งทำให้พืชเกิดการแตกหน่อได้ดีขึ้น ดังนั้นจึงเป็นที่นิยมใช้น้ำมะพร้าวกับอาหารสูตร MS ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย

คุณสมบัติของฮอร์โมน

สารเคมีที่นิยมใช้ควบคุมการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ ได้แก่

1. กลุ่มไซโตไคนิน เช่น ไคเนติน BA 2-ip ฯลฯ
2. กลุ่มออกซิน เช่น IBA, NAA, IAA และ 2, 4-D

กลุ่มไซโตไคนิน (cytokinin group)

ไซโตไคนิน มีบทบาทด้านการส่งเสริมให้เกิดการแบ่งเซลล์ ขยายขนาดของเซลล์ สารที่นำมาใช้ทางการเกษตร เช่น ไคเนติน BA และ 2-ip ฯลฯ มีงานทดลองใช้สารทั้งสองกลุ่มนี้ สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจำนวนมาก ทั้งในด้านชนิดของสาร อัตราความเข้มข้น และสัดส่วนของสารทั้งสองกลุ่ม เช่น Skoog และ Miller (1957) ได้แสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัดส่วนของปริมาณสาร ไซโตไคนิน ต่อ ออกซิน (C/A) กับงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อยาสูบโดยใช้ IAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคเนตินระหว่าง 0.02-10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าถ้าสัดส่วนของ C/A ต่ำ ผลที่ได้คือมีการสร้างรากจำนวนมาก แต่เมื่อค่อยๆเพิ่มสัดส่วนนี้ให้สูงขึ้น (เพิ่มไซโตไคนิน) เนื้อเยื่อจะมีการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว และได้เซลล์ที่มีผนังบางขนาดใหญ่ เมื่อไคเนตินเพิ่มสูงขึ้นมาอยู่ในระดับ 0.2-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ก้อนเนื้อเยื่อมีการสร้างตาจำนวนมาก และตาเหล่านี้สามารถนำมาเลี้ยงเป็นต้นยาสูบที่สมบูรณ์ ในสูตรอาหารที่เหมาะสมได้ เมื่อสัดส่วนนี้สูงเพิ่มขึ้นอีก เนื้อเยื่อที่ได้จะเป็นก้อนแคลลัสแข็ง ไม่มีการเปลี่ยนแปลงสภาพและหยุดการเจริญหรือถูกยับยั้ง เมื่อระดับความเข้มข้นของไคเนตินเพิ่มเป็น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

Gupta (1986) ได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากปลายยอด โดยใช้อาหารสูตร BP_{MS} เป็นพื้นฐาน ไม่มีการเพิ่มฮอร์โมนอื่นกระตุ้น เนื้อเยื่อจะเพียงแต่บวมหรือพองขึ้น รวมทั้งอาจมีรากเกิดขึ้นบ้างเพียง 1-2 ราก แต่จำนวนหน่อจะฟอร์มตัวเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มตัวกระตุ้นลงไปในอาหาร ดังตารางที่ 1 ทั้งนี้เพราะ BA จะมีผลทำให้

เกิดหน่อที่ไม่มีราก จำนวนหน่อจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BA เป็น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับไคเนตินที่ระดับ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้หน่อมากกว่าที่ระดับ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ละกรณีหน่อที่ได้จากไคเนติน จะได้น้อยกว่าจาก BA และจะมีรากเกิดขึ้นด้วยเมื่อความเข้มข้นของไคเนตินต่ำ (0.5-3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) ในการใช้ BA หรือไคเนติน กับกรด NAA จะส่งเสริมให้เกิดรากขึ้น ในการใช้กรด (2, 4-D) กับ NAA หรือ BA หรือไคเนติน จะชักนำให้เกิดแคลลัสเมื่อใช้ BA (0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร) ไคเนติน (0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร) การเพาะเลี้ยงกล้วย Maricongo จะได้ค่าเฉลี่ยของรากเป็น 9.4 ต่อ 1 เนื้อเยื่อปลายยอด ที่เหลือนอกนั้นจะให้ผลใกล้เคียงกัน การเพาะเลี้ยงครั้งนี้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 29 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส การเกิดหน่อใหม่จะรวมกันเป็นกลุ่มและมีรากเกิดขึ้น ใช้ระยะเวลา 10-12 สัปดาห์ เลี้ยงด้วยอาหารที่ใช้ BA และไคเนติน หลังจากนั้นจึงย้ายออกจากห้องเพาะเลี้ยง เพื่อนำไปลูกลงดินต่อไป การเลี้ยงครั้งนี้มีอัตราการรอดมากกว่าร้อยละ 95

กลุ่มออกซิน (auxin group)

พีรเดช (2537) ได้ศึกษาเกี่ยวกับออกซินและกล่าวไว้ว่า ออกซินที่มีอยู่ในพืชตามธรรมชาติ มีหน้าที่ในการส่งเสริมหรือควบคุมการเจริญเติบโต ทั้งในด้านการแบ่งเซลล์ ขยายขนาดของเซลล์ การออกดอกติดผล การร่วงหลุดของอวัยวะต่างๆ โดยมีผลร่วมกับฮอร์โมนชนิดอื่นๆในพืช เมื่อมีการใช้สารสังเคราะห์ที่มีผลคล้ายออกซินเพิ่มเข้าไปให้แก่พืช จะมีผลทำให้ความสมดุลของสารฮอร์โมนภายในเปลี่ยนแปลงไป ผลที่ตามมาคือการเจริญเติบโตอาจเปลี่ยนแปลงไป ทั้งด้านที่เกิดผลดีและผลเสีย ดังนั้นการใช้สารสังเคราะห์เหล่านี้ในการผลิตพืช เพื่อให้ได้ผลตามต้องการ จึงจำเป็นต้องศึกษาคุณสมบัติของสาร และผลที่เกิดขึ้นกับพืชโดยละเอียด ก่อนที่จะนำไปใช้ประโยชน์ สารออกซินสังเคราะห์ ใช้ประโยชน์ในการผลิตพืชได้หลายอย่าง เช่น เร่งการเกิดราก การติดผล การออกดอก ป้องกันผลร่วง อย่างไรก็ตามสารเหล่านี้ไม่สามารถใช้ประโยชน์กับ

ตารางที่ 1 ลักษณะที่เกิดขึ้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย เมื่อเพิ่มฮอร์โมนชนิดต่างๆลงไปในอาหารสูตร BP_{MS} (Gupta, 1986)

ฮอร์โมน (มก./ลิตร)		ลักษณะที่เกิดขึ้น: จำนวนหน่อที่พบใน 6 สัปดาห์ พิสัย	ค่าเฉลี่ย	จำนวนราก (%)	หน่อที่มีชีวิตในดิน
BA	1.0	8-13	9.5	20	60
BA	5.0	14-20	16.4	-	-
Kn	1.0	4-8	5.9	100	100
Kn	5.0	10-16	12.2	50	85
BA	3.5	12-18	14.9	-	-
Kn	1.5				
Kn	3.5	11-16	13.0	20	50
BA	1.5				
BA	2.5	12-18	14.5	-	-
Kn	2.5				
BA	0.7	6-12	9.4	97	100
Kn	0.7				
BA	2.5	10-16	12.1	25	60
NAA	0.5				
BA	0.5				
NAA	0.5	-	-	-	-
2,4-D	0.5				

พืชได้ทุกชนิด ออกซินมีผลต่อการแบ่งเซลล์ของแคมเบียม ออกซินที่สร้างจากปลายยอดจะเคลื่อนที่ลงมาทางด้านล่าง และจะทำให้เกิดการแบ่งเซลล์ของแคมเบียมที่อยู่ใต้ปลายยอดลงมา แต่ถ้ามีการตัดยอดออก จะทำให้การแบ่งเซลล์หยุดชะงักลง ออกซินที่มีอยู่ในพืชจะเพียงพอต่อการยืดตัว หรือขยายขนาดของเซลล์ได้ตามปกติ การเพิ่มออกซินจากภายนอกเข้าไปอีก ไม่สามารถทำให้เกิดการยืดตัวหรือขยายขนาดเพิ่มขึ้นได้อีก แต่ถ้าพืชอยู่ในสภาพขาดออกซิน พืชนั้นจะตอบสนองต่อออกซินที่ให้เพิ่มเข้าไปได้ ช่วงที่พืชมีการขยายขนาดของเซลล์ หรือมีการขยายขนาดของใบ จะพบว่ามีออกซินในปริมาณสูงควบคู่ไปกับการพัฒนาดังกล่าว เช่นในระหว่างการคลี่ของใบเฟิร์นจะมีออกซินสูง และจะค่อยๆลดต่ำลงเมื่อหยุดการคลี่ใบ

แสงมีความสำคัญต่อการสร้างออกซินมาก ถ้าพืชอยู่ในที่มืดจะทำให้การสร้างออกซินลดลงมาก ความเข้มของแสงก็มีผลด้วย เช่น ถ้าความเข้มของแสงต่ำ จะทำให้การสร้างออกซินลดลง การสร้างออกซินจะเพิ่มมากขึ้น เมื่อความเข้มของแสงมากขึ้นจนถึงระดับหนึ่งจึงคงที่ ซึ่งเมื่อถึงจุดนั้น การเพิ่มความเข้มของแสง ก็ไม่ทำให้การสร้างออกซินเพิ่มขึ้นอีก แสงสีแดงจะช่วยกระตุ้นการสร้างออกซินได้ดี

การสร้างออกซินในพืช อวัยวะต่างๆของพืช มีความสามารถในการสร้างออกซินได้แตกต่างกัน โดยปกติแล้ว แหล่งสร้างออกซินใหญ่ที่สุดของพืชอยู่ที่บริเวณตายอด นอกจากนั้นบริเวณอื่นๆที่มีเนื้อเยื่อเจริญ ก็เป็นแหล่งสร้างออกซินได้เหมือนกัน เช่น ปลายราก เมล็ด แคมเบียม ส่วนของพืชที่เจริญเติบโตและมีการขยายขนาด ก็เป็นแหล่งสร้างออกซินด้วย เช่นใบ ดอก ผล ที่กำลังขยายขนาด รวมทั้งปมราก (nodules) และปุ่มปมผิดปกติต่างๆ (tumors) โดยปกติส่วนแก่ต่างๆของพืช จะไม่ใช่แหล่งสร้างออกซิน ยกเว้นใบแก่ ซึ่งในใบแก่ยังมีการสร้างออกซิน เพื่อควบคุมไม่ให้เกิดการร่วงหลุดของใบ

เมื่อพืชสร้างออกซินขึ้นมาแล้ว จะเคลื่อนที่ไปตามส่วนต่างๆ เพื่อทำหน้าที่ควบ

คุมการเจริญเติบโต ออกซินในพืชจะเคลื่อนที่อย่างมีทิศทางที่แน่นอน จากแหล่งสร้างไปยังฐานของพืช (basipetal movement) การเคลื่อนที่ของออกซินในลำต้น จะเคลื่อนที่จากปลายยอดมายังโคนต้นเพียงทางเดียว แต่อาจมีบางกรณีมีการเคลื่อนที่ห่างจากฐาน (acropetal movement) นอกจากนี้ในลำต้นอาจมีการเคลื่อนที่ทางด้านขวางได้ ซึ่งเป็นสาเหตุให้ลำต้นมีการแบ่งเซลล์ และขยายขนาดของเซลล์ไม่เท่ากัน จึงทำให้เกิดการโค้งงอของลำต้น เช่น กรณีที่ได้รับการกระตุ้นจากแสงทางด้านข้าง หรือได้รับการกระตุ้นจากแรงโน้มถ่วงของโลก ในขณะที่ลำต้นขนานกับพื้น ส่วนการเคลื่อนที่ของออกซินในรากจะเกิดได้ทั้งสองทิศทาง ออกซินเคลื่อนที่ในลำต้นด้วยความเร็วสูงกว่าในราก และความเร็วในการเคลื่อนที่ ไม่ว่าในรากหรือลำต้น ก็ยังสูงกว่าการเคลื่อนที่แบบแพร่กระจายธรรมดา ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการเคลื่อนที่ของออกซินเป็น active transport ซึ่งต้องอาศัยพลังงานจากการหายใจ ถ้าการหายใจถูกขัดขวาง เช่น ในสภาพที่มีออกซิเจนน้อย อุณหภูมิต่ำ หรือมีสารยับยั้งการหายใจ ปัจจัยเหล่านี้จะทำให้ออกซินเคลื่อนที่ได้น้อยลง

พืชส่วนใหญ่มีการเจริญเติบโตขึ้นทางด้านบน โดยไม่มีการเจริญของตาข้างปกติทั้งตาข้างและตายอดของพืช ต่างก็เป็นแหล่งสร้างออกซิน แต่ออกซินที่สร้างขึ้นที่ตายอดส่วนหนึ่ง จะเคลื่อนที่ลงมาทางด้านล่าง ทำให้ปริมาณออกซินภายในตาข้างมีมากเกินกว่าที่ตานั้นจะเจริญออกมาได้ ทั้งนี้เพราะออกซินที่เข้มข้นสูง จะยับยั้งการเจริญของตา ดังนั้นถ้าแหล่งสร้างออกซินส่วนอื่นถูกทำลาย จะมีผลทำให้ปริมาณออกซินภายในตาข้างลดลง และสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ เช่น การตัดยอด การเด็ดใบทิ้ง หรือการใช้สารยับยั้งการเคลื่อนที่ของออกซิน เมื่อมีการใช้สารยับยั้งการเคลื่อนที่ของออกซินบางชนิดกับพืช จะทำให้ตาข้างที่อยู่ด้านล่างของตายอด เจริญเป็นกิ่งได้โดยไม่ต้องมีการตัดยอด เนื่องจากสารเหล่านี้ยับยั้งการเคลื่อนที่ของออกซินจากปลายยอด ไม่ให้ลงมาทางด้านล่าง จึงทำให้ปริมาณออกซินในตาข้างลดลงจนเหมาะสมต่อการเจริญเติบโต นอกจาก

นี้สารในกลุ่มไซโตไคนิน ก็มีผลในการลบล้างอิทธิพลของออกซิน ที่ส่งลงมาจากตายอดได้ โดยสามารถกระตุ้นการเจริญของตาข้าง โดยไม่ต้องมีการตัดยอด เมื่อมีการใช้สารนี้ทาที่ตาข้างของพืช ก็สามารถจะกระตุ้นให้ตานั้นเจริญออกมาเป็นกิ่งใหม่ได้ ไม่ว่าจะมีการตัดยอดหรือไม่ก็ตาม

เนื่องจากออกซินที่พบตามธรรมชาติในพืช มีความเข้มข้นต่ำมาก แต่ก็มากพอที่จะส่งเสริมการเจริญเติบโตของส่วนต่างๆในพืชได้ตามปกติ การสกัดสารออกซินตามธรรมชาติเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ทางการเกษตร จึงเป็นสิ่งที่กระทำได้ยาก นอกจากนั้นการสลายตัวยังเป็นไปได้ง่ายและรวดเร็วมาก ไม่สะดวกต่อการใช้ประโยชน์ ผลของออกซินที่มีต่อพืชในด้านต่างๆ มีแนวทางที่จะนำมาใช้ประโยชน์ในการควบคุมพืช ให้เกิดลักษณะที่ต้องการได้ โดยการใช้สารสังเคราะห์ที่มีผลคล้ายออกซิน ให้กับพืชในช่วงเวลาที่เหมาะสม เพื่อเปลี่ยนแปลงสมดุลของฮอร์โมนภายใน หรือเข้าไปมีผลทดแทนออกซินธรรมชาติโดยตรง ดังนั้นการใช้สารสังเคราะห์ซึ่งมีผลคล้ายออกซินธรรมชาติ เพื่อบังคับให้พืชเกิดการเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ต้องการ จึงเป็นสิ่งจำเป็นมาก ปัจจุบันมีสารสังเคราะห์หลายชนิดที่มีผลคล้ายออกซิน และส่วนใหญ่มีประสิทธิภาพสูงกว่าออกซินธรรมชาติ จึงได้มีการนำสารเหล่านี้มาใช้ประโยชน์กันอย่างกว้างขวาง สารที่นำมาใช้ทางการเกษตรมากที่สุดได้แก่ NAA, IBA, 2,4-D

IBA เป็นสารที่แสดงผลของออกซินค่อนข้างต่ำ แม้จะมีราคาแพง แต่ช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมมีกว้าง และมีความเป็นพิษน้อยกว่า NAA นอกจากนั้นยังมีการเคลื่อนที่ภายในพืชค่อนข้างช้ามาก แต่สลายตัวได้เร็วพอประมาณ เมื่อให้ฮอร์โมนนี้ตรงบริเวณจุดที่จะเกิดรากแล้ว มักไม่ค่อยเคลื่อนที่ไปที่อื่น ทำให้โอกาสที่พืชจะนำไปใช้เพื่อเร่งให้เกิดรากมีมากขึ้น จึงมีคุณสมบัติเหมาะสมในการเร่งการเกิดรากมาก (กฤษณา, 2537)

ชิ้นส่วนของพืชที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย พบรายงานที่เป็นหลักฐานครั้งแรกในปี คศ. 1960 โดย Cox และคณะ (1960) ได้ทดลองเลี้ยงดัพภะของกล้วยตานี บนสูตรอาหารดัดแปลงของ Knudson (1946) ผลปรากฏว่าต้นที่เกิดขึ้นมีการเจริญเติบโตในลักษณะเดียวกับต้นที่เกิดจากการเพาะเมล็ด หลังจากนั้นในปี ค.ศ. 1972 Ma และ Shii ได้รายงานถึงการชักนำให้เกิด ตาข้าง จากการเพาะเลี้ยงปลายยอด และในปี ค.ศ. 1974 Ma และ Shii ได้รายงานความก้าวหน้าต่อถึงวิธีการชักนำให้เกิดยอดเล็กๆ และการเจริญของตาจนเป็นต้นเล็กๆ (อ้างโดย ปาริชาต, 2526)

สำหรับส่วนต่างๆของกล้วย ที่สามารถนำมาใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นมีหลายอย่าง ตามรายงานที่ได้มีผู้ศึกษาไว้เช่น ในประเทศไต้หวัน Ma และ Huang (1982) รายงานไว้ว่าส่วนต่างๆของกล้วย เช่น ปลายยอดหน่อ ช่อดอกอ่อน และส่วนปลายของช่อดอก สามารถนำมาใช้เพาะเลี้ยงเพื่อขยายพันธุ์ได้ แต่ส่วนที่เหมาะสมที่สุดคือ ปลายยอดของหน่อ โดยเลี้ยงบนสูตรอาหารดัดแปลงของ Murashige และ Skoog (1962) ที่เติม IAA และ ไคเนติน อย่างละ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร Hwang และคณะ (1984) ทำการเลี้ยงปลายยอดของกล้วย บนสูตรอาหารเดียวกัน พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณหน่อกล้วยเล็กๆได้ถึง 5 เท่า ในแต่ละเดือน นอกจากนั้นต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะให้ผลก่อนต้นที่ปลูกจากหน่อซึ่งมีความสูงเท่ากัน ทั้งการให้ผลก็มีความสม่ำเสมอมากกว่า

ในประเทศอินเดีย Rao และคณะ (1982) ได้นำปลายยอดของช่อดอกกล้วย Robusta มาเลี้ยงบนสูตรอาหารดัดแปลงของ MS พบว่ามีการเจริญเป็นแคลลัส และราก แต่ไม่สามารถชักนำให้เกิดเป็นต้นได้ Dore และคณะ (1983) ศึกษาพบว่าปลายยอดของกล้วย Robusta ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ซึ่งเติมน้ำมะพร้าวร้อยละ 15 ร่วมกับ BA จำนวน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA จำนวน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะเจริญเป็นต้นเพียงต้นเดียว ถ้าไม่มีการตัดแบ่งปลายยอดนั้น แต่ถ้าตัดแบ่งตาข้างที่พักตัวตามซอกใบ จะเจริญเพิ่มปริมาณได้มากขึ้นจากชิ้นส่วน 1 ชิ้น มีการเพิ่มปริมาณได้มาก

กว่า 35 หน่อ เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวร้อยละ 15 และ BA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อต้องการให้เกิดราก ก็ทำการย้ายลงบนอาหารที่เติม IBA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

ในประเทศฟิลิปปินส์ De Guzman และคณะ (1980) ทดลองเลี้ยงปลายยอดของกล้วยพันธุ์ Lacatan บนสูตรอาหาร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวร้อยล ะ 15 และ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรากฏว่าในการตัดแบ่งและเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 1 และ 2 การเพิ่มปริมาณเป็นไปได้ช้ามาก แต่ในครั้งที่ 3 และ 4 การเพิ่มปริมาณเป็นไปอย่างรวดเร็ว Olivia และ Barba (1984) ได้รายงานผลเกี่ยวกับปลายยอดกล้วย Saba ที่เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ซึ่งเติม BA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มปริมาณได้ถึง 200,000 ต้น ภายในเวลา 10 เดือน โดยทำการเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 8 สัปดาห์

ในประเทศฮาวาย Arakawa (1982) ศึกษาพบว่าการเลี้ยงปลายยอดของกล้วยพันธุ์ Santa Catarina บนสูตรอาหารดัดแปลงของ MS สามารถเพิ่มปริมาณได้ถึง 900 ต้น ภายในเวลา 11 เดือน โดยเริ่มจากกล้วย 1 หน่อ ที่มีตายอด 1 ตา และตาข้าง 6 ตา เวลาที่เหมาะสมในการเปลี่ยนอาหารคือ 6-8 สัปดาห์ Singha (1982) ได้รายงานถึงความเป็นไปได้ เมื่อใช้วิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสำหรับการขยายพันธุ์กล้วยพันธุ์ใหม่ๆ เพื่อใช้ปลูกเป็นการค้าในพื้นที่ขนาดใหญ่

ในประเทศคอสตาริกา Jarret และคณะ (1985) ได้รายงานผลถึงการเลี้ยงปลายยอดกล้วยพันธุ์ Pelipita และ Saba บนสูตรอาหาร MS ที่เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ขนาดของเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้น 3-5 เท่า ของขนาดเริ่มต้นในเวลา 4 สัปดาห์ เมื่อทำการตัดแบ่ง และย้ายลงเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ซึ่งเติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทุก 4 สัปดาห์ ยอดเล็กๆจะเพิ่มขึ้นได้ 16 ยอดจากชิ้นส่วน 1 ชิ้น แต่ถ้าเก็บไว้ตั้งแต่ 4-8 สัปดาห์ ยอดจะเพิ่มเป็น 22 และ 31 ยอดตามลำดับ เมื่อต้องการให้เกิดรากก็ย้ายลงเลี้ยงบนอาหารสูตร MS

Vessey และ Rivera (1981) ได้ศึกษาพบว่าเมื่อนำปลายยอดของกล้วยมาตัดตามยาวเป็น 7-12 ชิ้น เลี้ยงบนสูตรอาหารดัดแปลงของ MS ภายในเวลา 1 เดือนจะเกิดยอดจำนวนมาก เมื่อแยกแต่ละยอดไปเลี้ยงบนอาหารใหม่ ภายในเวลา 2 เดือนจะเจริญเป็นต้นและสามารถย้ายออกปลูกได้ Bower และ Fraser (1982) รายงานผลการเลี้ยงปลายยอดกล้วยพันธุ์ Williams จะสามารถเจริญได้ดีบนอาหารสูตร MS ซึ่งเติมไคเนติน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยจะเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์ในเวลา 4 สัปดาห์ และย้ายออกปลูกได้ภายในเวลา 6 สัปดาห์ ต่อมาในปี ค.ศ. 1984 ได้มีรายงานเพิ่มเติมว่า ถ้าต้องการปริมาณเพิ่มควรผ่ายอดตามยาว เลี้ยงบนอาหารซึ่งเติม BA และ IAA ภายในระยะเวลา 3 สัปดาห์ ยอดจะเพิ่มปริมาณขึ้น 5-13 ยอด

Cronauer และ Krikorian (1984) ทดลองเลี้ยงปลายยอดของกล้วย 4 พันธุ์ บนอาหารสูตร MS ซึ่งเติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และทำการเปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ พบว่ากล้วยแต่ละพันธุ์เพิ่มปริมาณได้ไม่เท่ากัน และการเพิ่ม IAA หรือ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหาร จะช่วยให้การเกิดรากดีขึ้น ต้นที่ได้สามารถย้ายออกปลูกได้ภายใน 2 สัปดาห์

ประเทศไทยมีผู้นำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ขยายพันธุ์กล้วย แต่ส่วนใหญ่มักทดลองกับกล้วยไข่ หรือกล้วยหอมทอง เพราะมีค่าทางเศรษฐกิจ สามารถส่งจำหน่ายต่างประเทศได้ ตัวอย่างที่มีผู้ศึกษาไว้เช่น ปาริชาต (2526) ได้ทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากกล้วยหอมทอง โดยนำหน่อกล้วยที่มีขนาดสูง 1 เมตร ลอกกาบตัดชิ้นส่วนที่มีตาข้างและตายอดขนาด 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำเข้าตู้ปลอดเชื้อ ฆ่าด้วยน้ำยาคลอรอกซ์เข้มข้น ร้อยละ 10 เป็นเวลานาน 15 นาที ล้างชิ้นส่วนนั้นด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 1-2 ครั้ง ใช้มีดผ่าตัดและปากคีบจุ่มแอลกอฮอล์เผาไฟ 2-3 ครั้ง ทิ้งให้เย็นสักครู่ ลอกกาบที่หุ้มตาและตัดส่วนที่สัมผัสคลอรอกซ์ออก แล้วตัดแบ่งชิ้นส่วนที่ได้ให้

เหลือตาข้าง 2-3 ตา และตายอด 1 ตา ผ่าชิ้นส่วนนี้ออกเป็น 4 ส่วน นำไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ MS ที่เติมน้ำมะพร้าวร้อยละ 15 และ BA 5 ppm เลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังจากนั้นทำการตัดแบ่งและเปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ เพื่อเพิ่มปริมาณยอด ผลการทดลองพบว่า ชิ้นส่วนดังกล่าวสามารถเจริญเป็นต้นได้ในอาหารสูตร MS ธรรมดาที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ทั้งนี้เป็นเพราะปริมาณออกซินและไซโตไคนิน ภายในเนื้อเยื่อส่วนปลายยอดและตาข้างของกล้วยหอมทอง มีปริมาณพอเหมาะที่จะทำให้เนื้อเยื่อเกิดยอดและรากได้ แต่การเจริญของการเพาะเลี้ยงตาข้าง จะช้ากว่าการใช้ส่วนปลายยอด ทั้งนี้อาจเป็นเพราะตาข้างยังอยู่ในระยะพักตัว จึงต้องใช้เวลานานกว่าส่วนปลายยอด ที่จะพัฒนาไปเป็นยอดและรากตามลำดับ

เมื่อนำส่วนปลายยอดอ่อนของกล้วยหอมทอง มาเลี้ยงในอาหารดัดแปลง สูตร MS ที่มี BA 5 ppm และน้ำมะพร้าวร้อยละ 15 พบว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดได้เป็นจำนวนมากกว่าการใช้อาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ผลการทดลองนี้ตรงกับรายงานของ Ma และ SHii (1972); De Guzman (1975) ซึ่งพบว่าไซโตไคนินจำเป็นสำหรับการสร้างตา (bud formation) การเพาะเลี้ยงส่วนปลายยอดอ่อนของกล้วย ในระยะแรกที่เลี้ยงบนอาหารดัดแปลงสูตร MS + BA + น้ำมะพร้าว พบว่าไม่มีการเจริญของราก จึงสอดคล้องกับการทดลองของ Hussey (1976) ซึ่งกล่าวไว้ว่า นอกจาก BA จะกระตุ้นให้ตาข้างมีการเจริญเติบโต และพัฒนาไปเป็นยอดจำนวนมากแล้ว ยังไปยับยั้งการเจริญเติบโตของรากด้วย ส่วนน้ำมะพร้าว มีสารประเภท myoinositol, 1-3- diphenylurea และ leucoanthocyanin สารต่างๆเหล่านี้มีความสามารถในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ (สัมพันธ์, 2525) ดังนั้นน้ำมะพร้าวน่าจะมีส่วนช่วยในการเจริญเติบโตของชิ้นส่วน ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยด้วย นอกจากนี้ในการตัดแบ่งและเปลี่ยนอาหารแต่ละครั้ง จะทำให้ปริมาณการเกิดตาเพิ่มขึ้นตามลำดับ ซึ่งเป็นไปในทำนองเดียวกันกับการทดลองของ Guzman และคณะ (1980)

ประภาสินี (2529) ศึกษาการขยายพันธุ์กล้วยไข่พระตะบอง โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยนำกล้วยไข่พระตะบองมาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว ด้วยคลอรอกซ์ร้อยละ 10 เป็นเวลานาน 30 นาที ตัดแบ่งเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ซึ่งเติมน้ำมะพร้าวร้อยละ 15 และ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าตาข้างที่อยู่ระหว่างซอกใบ มีการเจริญเติบโตเป็นหน่อกล้วยเล็กๆได้ เมื่อทำการตัดแบ่งย้ายลงเลี้ยงบนอาหารใหม่ทุก 4 สัปดาห์ สามารถเพิ่มปริมาณได้ถึง 1,025 หน่อ ในระยะเวลา 20 สัปดาห์ และเมื่อศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลง และการเพิ่มปริมาณหน่อกล้วย Bungulan ที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อพบว่า ค่าพีเอชที่เหมาะสมคือ 5.6 สารเร่งการเจริญเติบโตของกลุ่มไซโตไคนิน ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณหน่อคือน้ำมะพร้าวร้อยละ 20 หรือ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ ไคเนติน 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สารเร่งการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินที่เหมาะสมต่อการเกิดรากคือ IAA หรือ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เกี่ยวกับปฏิกิริยาความเป็นกรด - ด่าง ของอาหารที่ใช้เลี้ยงนั้น ศรีสังวาลย์ (2533) ได้ศึกษาผลของปฏิกิริยาความเป็นกรด - ด่าง ต่อการเกิดหน่อของกล้วยบนอาหารสังเคราะห์ ด้วยการนำหน่อกล้วยไข่มาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยคลอรอกซ์ร้อยละ 10 เป็นเวลานาน 15 นาที ตัดแบ่งชิ้นส่วนออกเป็น 4 ส่วน นำไปเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารดัดแปลงคือ MS + น้ำมะพร้าวร้อยละ 15 + BAP 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อเพิ่มปริมาณของหน่อกล้วยไข่ ให้เพียงพอสำหรับใช้ในการทดลอง หลังจากนั้นนำต้นที่ได้มาตัดแบ่ง 2 ส่วน นำไปเพาะเลี้ยงในอาหารสูตรที่ใช้ในการขยายหน่อ แต่ปรับค่าพีเอชของอาหารให้เป็น 5 ระดับคือ 4.5, 5.0, 5.6, 6.0 และ 6.5 เมื่อครบ 6 สัปดาห์ พบว่าเนื้อเยื่อที่เลี้ยงบนอาหารซึ่งมีค่าพีเอช 5.6 มีการเจริญดีที่สุด กล่าวคือ มีการเพิ่มขนาด การแตกหน่อ และการพัฒนาเป็นต้นที่แข็งแรง ใบใหญ่ มีรากเกิดขึ้นดีกว่าการเลี้ยงบนอาหารที่มีค่าพีเอชระดับอื่นๆ

สุภาพร (2532) ได้รายงานไว้ว่า การเลี้ยงกล้วยไข่บนอาหารสูตร MS ซึ่ง

เติมน้ำมะพร้าวร้อยละ 15 น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร และ BAP 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ปรับค่าพีเอชของอาหารเป็น 5.6 ปรากฏว่าในระยะเวลา 6 สัปดาห์ เนื้อเยื่อพัฒนาเป็นต้นกล้วยเล็กๆได้ เมื่อต้องการเพิ่มปริมาณจึงทำการตัดแบ่งต้น แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS + น้ำมะพร้าวร้อยละ 15 + BAP 5-10 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระยะเวลา 4 สัปดาห์ จะได้หน่อเล็กๆประมาณ 3.33 และ 3.75 หน่อ ตามลำดับ (อ้างโดย ศรีสังวาลย์, 2533)

เกี่ยวกับระดับความเข้มข้นของวุ้นในอาหาร ที่ใช้สำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยนั้น ศิริลักษณ์ (2533) ได้ศึกษาทดลองหาระดับความเข้มข้นของวุ้นต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไข่ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพบว่า ความเข้มข้นของวุ้นที่เหมาะสมที่สุดคือร้อยละ 0.5 แต่ Singha (1982) กล่าวว่าความเข้มข้นของวุ้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ Malus sp. "Almey" และ Pyrus communis "Seckel" อยู่ระหว่างร้อยละ 0.3-1.0 สำหรับประเภทไม้ดอก สะอาด (2526) ศึกษาพบว่าความเข้มข้นของวุ้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อแกลดิโอลัส อยู่ระหว่างร้อยละ 0.4-0.8 ถ้าระดับความเข้มข้นของวุ้นเพิ่มมากขึ้น จะทำให้การเจริญเติบโตของต้นลดลง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะที่ระดับความเข้มข้นของวุ้นต่ำ มักมีความต้านทานต่อการแพร่ของธาตุอาหารและสารเร่งการเจริญเติบโตน้อย (Singha, 1982) สำหรับกล้วยไข่ผลจากการทดลองพบว่า เมื่อลดระดับความเข้มข้นของวุ้นลงเป็นร้อยละ 0.4 การเจริญของเนื้อเยื่อกล้วยไข่ไม่ดี ทั้งนี้อาจเป็นเพราะวุ้นยังเหลวเกินไป ทำให้ชิ้นส่วนพืชจมลงในอาหาร ส่วนที่ได้รับอาหารจึงน้อยกว่าความเข้มข้นของวุ้นที่ระดับอื่นๆ ซึ่งอาจมีผลทำให้ชลอการเจริญเติบโต ส่วนวุ้นที่ระดับความเข้มข้นสูงๆ จะมีผลต่อการเพิ่มศักยภาพน้ำในอาหาร โดยจะทำให้เกิดสภาพเครียดอย่างอ่อนๆ จึงทำให้ลดการเจริญเติบโตของต้นเนื่องจากการขาดน้ำ (Brown และคณะ, 1979)

ในการทดลองของ Romberger และ Tabor (1971) พบว่ามักมีสารยับยั้ง

การเจริญเติบโตในวุ้น ดังนั้นอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของวุ้นสูงๆ จึงมีสารยับยั้งการเจริญเติบโตมากขึ้นด้วย ย่อมส่งผลให้เนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตลดลง นั่นคือการทดลองที่มีความละเอียด จึงควรใช้วุ้นที่มีความบริสุทธิ์สูงๆ เช่น agarose เป็นต้น เบญจมาศ (2534) ได้สรุปผลการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไข่ว่า ถ้าใช้อาหารสูตร MS + BA 5-10 ppm จะเกิดต้นแรกเร็ว ส่วนกล้วยหอมแกรนด์เนนและกล้วยหอมทอง นั้นใช้อาหารสูตร MS + น้ำมะพร้าวร้อยละ 15 + BA 5 ppm ถ้าพิจารณาเกี่ยวกับความเป็นกรดเป็นด่างพบว่า ค่าพีเอชที่ระดับ 5.6-5.8 เหมาะสมกับกล้วยทุกชนิด อาหารที่ทำให้แข็งใช้วุ้น 5 กรัมต่อลิตร จะใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยได้ดี

การขยายพันธุ์กล้วยด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนี้ ส่วนใหญ่มักใช้ชิ้นส่วนจากปลายยอด แต่ก็มีผู้ทดลองใช้ชิ้นส่วนอื่นๆขยายพันธุ์บ้างเล็กน้อย เช่น เบญจมาศ และ Gamborg (2529) ทำการทดลองเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนของแผ่นใบ ก้านใบ และราก ในอาหารสูตรต่างๆ เป็นเวลา 1 เดือน พบว่ามีแคลลัสเกิดขึ้นได้บนแผ่นใบเท่านั้น แต่ไม่พบที่ก้านใบหรือราก และแคลลัสที่เกิดขึ้นบนแผ่นใบนั้น ก็มีโอกาสเกิดเพียงร้อยละ 50 เท่านั้น ทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับความแก่อ่อนของใบ จึงทำให้เกิดแคลลัสได้แตกต่างกัน สำหรับก้านใบและราก หลังจากเลี้ยงบนอาหารสูตรต่างๆแล้ว มีอาการคล้ายคลึงกันคือ จะค่อยๆเปลี่ยนเป็นสีดำ ซึ่งอาจเนื่องมาจากสารฟีโนลิก ที่มีอยู่ในชิ้นส่วนนั้น

แคลลัส เป็นกลุ่มเนื้อเยื่อสีขาว ส่วนใหญ่มีรูปร่างไม่แน่นอน ลักษณะคล้ายกับมีการอวบน้ำเกิดขึ้น เนื้อเยื่อพวกนี้เป็นพวกเซลล์ parenchyma เกิดจากกลุ่มเซลล์บริเวณทางเดินของท่อน้ำเลี้ยง การที่พืชสร้างแคลลัสเพื่อประโยชน์ในแง่ช่วยป้องกันมิให้เน่าง่าย และอาจช่วยดูดน้ำหรือความชื้นไว้บ้าง (กฤษณา, 2537) การเลี้ยงแคลลัสเป็นเสมือนสารก่อกลายพันธุ์โดยตัวเอง ทั้งนี้เพราะถ้าเป็นเซลล์แคลลัสในระยะเวลานานๆ มักมีพันธุกรรมที่ไม่คงตัว และจะเจริญเป็นต้นพืชที่มีความผันแปรทางพันธุกรรมในที่สุด ดังนั้นเทคนิคนี้จึงเหมาะสำหรับใช้ปรับปรุงพันธุ์พืช แต่ในแง่ของการขยายพันธุ์พืชนั้น ต้องการ

ประชากรพืชที่ตรงตามสายพันธุ์ ไม่มีความผันแปรหรือกลายพันธุ์ ซึ่งสามารถขยายพันธุ์ได้โดยชักนำให้ชิ้นส่วนของพืชพัฒนาเป็นต้นโดยตรงไม่ผ่านแคลลัส เช่นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเจริญปลายยอด (Kartha, 1981) แต่ประดิษฐ์ และคณะ (2536) ได้ทดลองใช้ชิ้นส่วนของใบ ข้อ และลำต้น ของมะเขือเทศ พบว่าสามารถเจริญเป็นแคลลัส และแคลลัสนั้นสามารถเจริญพัฒนาเป็นต้นใหม่ได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพันธุ์ และอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ เบญจมาศ และ Gamborg (2529) ได้ทำการใช้ชิ้นส่วนของแผ่นใบ ก้านใบ และรากของกล้วย ผลการทดลองพบว่าเฉพาะแผ่นใบเท่านั้นที่มีแคลลัสเกิดขึ้นได้ประมาณร้อยละ 50 สูตรอาหารที่ชักนำให้เกิดแคลลัสได้คือ MS ที่เติม NAA และ BA เมื่อนำแคลลัสมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ที่ระดับความเข้มข้น 2.5 ppm สามารถกระตุ้นให้เกิดต้นได้ร้อยละ 30 และเมื่อย้ายต้นอ่อนลงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญพบว่าทุกต้นสามารถเกิดรากได้ดี

วิธีปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย มีขั้นตอนปฏิบัติการตามลำดับดังนี้คือ

1. นำหน่อหรือปลีที่ได้มาลอกกาบออกให้เหลือขนาดประมาณ 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปาดโคนออกให้ส่วนของจุดเจริญคงเหลืออยู่ ถ้าเป็นตาให้ปาดส่วนตาออกจากลำต้น

2. นำชิ้นส่วนดังกล่าว แช่ในสารละลายคลอรอกซ์ ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 10 เป็นเวลานาน 5-15 นาที เพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมา

3. ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว เพื่อให้สารละลายคลอรอกซ์หมดไป ควรกระทำในตู้ปลอดเชื้อ

4. นำชิ้นส่วนที่ได้ลอกกาบออก โดยใช้มีดผ่าตัดและปากคีบที่สะอาดนึ่งฆ่า

เชื้อแล้ว และจุ่มแอลกอฮอล์เผาไฟอีกครั้งก่อนใช้ ลอกกาบจนเหลือขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ผ่าชิ้นส่วนดังกล่าวเป็น 4 ชิ้น แต่ละชิ้นให้มีจุดเจริญอยู่ด้วย

5. นำชิ้นส่วนที่มีจุดเจริญ วางลงบนอาหารสำหรับเพาะเลี้ยง

6. นำไปเลี้ยงในห้องสะอาดสำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่ปรับอุณหภูมิระหว่าง 20-35 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่พอเหมาะคือ 26-30 องศาเซลเซียส ความเข้มของแสงระหว่าง 1,500-3,000 ลักซ์ ความเข้มข้นของแสงสูงจะช่วยให้แตกต้นใหม่เร็วขึ้น

แหล่งของธาตุคาร์บอนที่ใช้ มักได้จากน้ำตาล ความเข้มข้นร้อยละ 2-4 โดยปริมาตร ปกติมักใช้ร้อยละ 3 โดยปริมาตร น้ำตาลที่ใช้ส่วนใหญ่ใช้น้ำตาลซูโครส หรืออาจใช้น้ำตาลเดกซ์โตสแทน ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากัน

หลังจากผสมส่วนต่างๆเรียบร้อยแล้ว ควรปรับปฏิกิริยาความเป็นกรด-ด่าง ของอาหาร ให้มีค่าประมาณ 5.6-6.8 โดยใช้ NaOH และ HCl ที่ระดับความเข้มข้น 1 N. ปกติปฏิกิริยาความเป็นกรด-ด่าง มักลดลง 0.5-1.0 หน่วย หลังจากนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ปล่อยทิ้งไว้ให้อาหารแข็ง บางครั้งอาจเลี้ยงชิ้นส่วนในอาหารเหลว แต่ที่นิยมใช้มากคือลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว (semi-solid) ซึ่งเป็นอาหารที่ประกอบด้วยวุ้นเข้มข้น 4.5-8.0 กรัมต่ออาหาร 1 ลิตร (ที่นิยมประมาณ 5 กรัมต่ออาหาร 1 ลิตร) ศิริลักษณ์ (2533) ได้รายงานการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไข่ บนอาหารสูตร MS ที่ใส่สารตัวเติม (วุ้น 0.6 %) กับไม่ใส่สารตัวเติม นำอาหารเหลววางบนเครื่องเขย่า ปรากฏว่าจำนวนหน่อใหม่ที่ได้จะลดลงเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว แต่จะเจริญเติบโตได้ดีและรวดเร็วกว่าอาหารที่ใส่วุ้น จึงสอดคล้องกับการทดลองของ Kusey และคณะ (1980) ซึ่งได้ทดลองกับยิบโซฟิลา พบว่าการเจริญเติบโตของหน่อในอาหารเหลว เป็นไปได้ดีกว่าอาหารที่ใส่วุ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการดูดซึมและความเป็นประโยชน์ ตลอดจนการกระจายตัวของสารเร่งการเจริญเติบโตในอาหาร เป็นไปได้ดีกว่านั่นเอง แต่ถ้าเนื้อเยื่อในอาหารเหลว มีการปลดปล่อยสารพิษออกมามาก ก็จะสามารถแพร่กระจายได้ดีกว่า

นอกจากนี้ เนื่องจากอาหารเหลววางอยู่บนเครื่องเขย่าตลอดเวลา จึงทำให้สามารถรับอากาศได้มากกว่าอาหารที่ใส่วุ้น อย่างไรก็ตามในขณะที่อาหารเหลว มีผลในทางส่งเสริมการเจริญเติบโตของหน่อกล้วยไข่ แต่จะทำให้การแตกหน่อของเนื้อเยื่อลดลง อาจเป็นไปได้ว่า การเลี้ยงปลายยอดในอาหารเหลว และวางบนเครื่องเขย่า จะทำให้เสียสภาพขั้ว (polarity) เนื่องจากการวางชิ้นส่วนในอาหารเหลวบนเครื่องเขย่า มีทิศทางการเจริญเป็นต้นที่ไม่แน่นอน

เมื่อเตรียมอาหารเรียบร้อยแล้ว นำบรรจุ ขวดที่มีฝาปิด ขวดที่ใช้ควรเป็นขวดแก้ว หรือพลาสติก ซึ่งทนความร้อนสูงและความดันได้ดี นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ขนาดของขวดก็มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้วย ถ้าขวดกว้างมีพื้นที่ภายในมาก จะช่วยให้มีการเจริญแตกหน่อดี เช่น มีการเปรียบเทียบการใช้หลอดแก้ว (test tube) กับขวดปากกว้าง ขนาด 11 x 6 เซนติเมตร และในจานแก้ว (petridish) สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย พบว่าขวดและจานแก้วทำให้ชิ้นส่วนเจริญได้รวดเร็ว และได้จำนวนต้นอ่อนมากกว่าการเพาะเลี้ยงในหลอดแก้ว

ระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนปลายยอด ใช้เวลาต่างกันในการแตกยอดอ่อนคือประมาณ 1-2 เดือน เช่น กล้วยไข่ใช้เวลา 6 สัปดาห์ กล้วยหอมแกรนด์เนนใช้เวลา 7-8 สัปดาห์ กล้วยหอมทอง 8 สัปดาห์ และกล้วยน้ำว้า 9 สัปดาห์ จึงเริ่มงอกต้นแรก ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า เวลาที่ใช้ในการเกิดต้นแรกนั้น ขึ้นอยู่กับชนิดของพันธุ์ และบรรยากาศในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ ถ้าบรรยากาศนั้นปรับให้พอเหมาะกับการเจริญของกล้วย เช่น อุณหภูมิพอเหมาะควรอยู่ระหว่าง 26-30 องศาเซลเซียส หรืออาจปรับได้สูงถึง 35 องศาเซลเซียส ความเข้มของแสงประมาณ 3,000 ลักซ์ นอกจากนี้สูตรอาหารและฮอร์โมนที่ใช้ ก็มีส่วนในการเกิดต้น การเจริญของต้น และการแตกหน่อด้วย

เมื่อต้นอ่อนกล้วยมีใบ 2-3 ใบ ทำการย้ายลงบนอาหารสูตรเดิมแต่ขวดใหม่ถ้า

ต้องการเพิ่มจำนวนต้น ควรนำต้นอ่อนนั้นตัดส่วนใบออก แล้วผ่า 4 ชิ้น พยายามให้แต่ละชิ้นมีจุดเจริญอยู่ นำไปเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิม ในการตัดแบ่งเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มปริมาณนี้ พบว่า เนื้อเยื่อที่มีขนาดใหญ่มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าเนื้อเยื่อที่มีขนาดเล็ก ซึ่งจะมีการเจริญเติบโตช้าหรือไม่มีการเจริญเติบโตเลย ในการตัดแบ่งเนื้อเยื่อ ควรตัดให้ผ่านส่วนที่เป็นยอดของหน่อ เพื่อตาข้างซึ่งอยู่ระหว่างซอกใบจะได้มีการเจริญเป็นหน่อ ส่วนของเนื้อเยื่อซึ่งเป็นสีดำควรตัดออกให้หมด เนื่องจากเนื้อเยื่อส่วนนี้ มีการสร้างสารประกอบฟีโนลิก ทำให้เนื้อเยื่อมีสีดำ และทำให้อาหารมีสีดำด้วย ซึ่งถ้าปล่อยทิ้งไว้นานจะทำให้เนื้อเยื่อมีการเจริญเติบโตช้าลง การตัดแบ่งและเปลี่ยนอาหารใหม่ก่อน 4 สัปดาห์ จะทำให้หน่อที่ได้มีขนาดเล็ก แต่มีปริมาณมาก การปล่อยเนื้อเยื่อไว้บนอาหารเดิมนานกว่า 4 สัปดาห์ โดยไม่ทำการตัดแบ่งและเปลี่ยนอาหาร จะทำให้หน่อเล็กๆที่ได้เจริญเป็นต้น จึงทำให้ต้องใช้เวลาในการตัดแบ่งเพิ่มขึ้น เนื่องจากต้องเสียเวลาตัดส่วนที่เป็นใบทิ้งไป ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อเพิ่มปริมาณนั้น ควรตัดแบ่งและเปลี่ยนอาหารใหม่ทุกๆ 4 สัปดาห์ ซึ่งจากการทดลองของ ประภาสินี (2529) พบว่าจะมีอัตราการเพิ่มปริมาณ 3.6 เท่า ทุก 4 สัปดาห์ มีการปนเปื้อนและการตายร้อยละ 10 ภายใน 1 ปี จะได้หน่อถึง 10,000 ต้น โดยเริ่มจากหน่อเดียว แต่การเพิ่มปริมาณหน่อกล้วยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนี้อาจแตกต่างกันบ้าง เนื่องจากความแตกต่างของพันธุ์กล้วยที่นำมาใช้ทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Cronauer และ Krikorian (1984) จากวิธีการดังกล่าว ทำให้ได้ต้นกล้วยจำนวนมากกว่าการขยายพันธุ์ด้วยวิธีอื่น เมื่อได้จำนวนต้นตามต้องการ ก่อนนำไปปลูกควรเลี้ยงต้นอ่อนบนอาหารสูตร MS ที่ไม่มีฮอร์โมน เพื่อให้เกิดราก ประมาณ 1 เดือน ต้นอ่อนนั้นจะสูงขึ้นและมีรากพอประมาณ จึงย้ายออกจากขวดเพื่อปลูกในบรรยากาศปกติ ก่อนนำต้นอ่อนออกจากขวด ควรนำขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย ไปไว้ในห้องที่มีบรรยากาศปกติก่อนประมาณ 1-2 วัน เพื่อให้ต้นอ่อนซึ่งอยู่ในขวดปรับตัวเข้ากับอุณหภูมิและความเข้มของแสง

วิธีการย้ายต้นอ่อนออกจากขวดเพื่อนำไปปลูก เมื่อต้นอ่อนปรับตัวในบรรยากาศปกติแล้ว ใช้ปากคีบนำต้นอ่อนออกจากขวดเบาๆ ล้างน้ำเพื่อไม่ให้วุ้นติด ถ้าจะให้ดีควรล้างด้วยน้ำอุ่น เพราะน้ำอุ่นจะชะล้างวุ้นที่ติดตามรากได้หมดกว่า ต้นอ่อนที่มีวุ้นติดเมื่อทำการปลูกอาจเป็นอันตรายถึงตายได้ เพราะวุ้นจะเป็นที่เจริญของเชื้อโรคได้ดี หลังจากล้างวุ้นออกหมดแล้วจุ่มลงในยากันเชื้อรา นำไปปลูกบนเครื่องปลูกที่สะอาดปราศจากโรค เครื่องปลูกที่ดีควรประกอบด้วย ทราย : ดิน : ปุ๋ยหมัก อัตราส่วน 1:1:1 อบฆ่าเชื้อทิ้งไว้ให้เย็นจึงนำมาใช้ การปลูกควรกลบดินให้หนา 1-2 เซนติเมตร รดน้ำให้ชุ่ม เก็บไว้ในเรือนเพาะชำที่มีความชื้นสูง การให้ความชื้นกับดินและต้นอ่อนที่พอเหมาะ จะทำให้ต้นอ่อนนั้นตั้งตัวดีและเจริญเติบโตเร็ว มีอัตราการรอดร้อยละ 90-100 ถ้าได้รับสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสม หลังจากต้นอ่อนตั้งตัวดีแล้ว ควรให้ปุ๋ยเพื่อเร่งการเจริญเติบโตเช่น ปุ๋ยยูเรียอัตรา 0.1-0.5 กรัมต่อน้ำ 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต่อต้นอ่อนหรือต้นกล้า 1 ต้นทุกสัปดาห์ ในการย้ายต้นอ่อนช่วงแรก ย้ายลงในกระบะสำหรับเพาะชำก่อน โดยอาจใช้กระบะพลาสติก แล้วทำการย้ายลงกระถางอีกครั้ง เมื่อต้นกล้ามีอายุ 3-6 สัปดาห์ หรืออาจย้ายลงกระถางเดี่ยวตั้งแต่แรก ควรเลี้ยงต้นกล้าในเรือนเพาะชำก่อนที่จะนำลงแปลงปลูก รวมระยะเวลาทั้งสิ้น 3 สัปดาห์ หรือเมื่อต้นมีความสูง 30-50 เซนติเมตร จึงนำลงแปลงปลูกได้

สถานการณ์ของกล้วยในประเทศไทย

ข่าวสารสถาบันวิจัยพืชสวน (2536) กล่าวไว้ว่า ประเทศไทยมิได้มีเป้าหมายผลิตกล้วยเพื่อการส่งออกอย่างจริงจัง แม้ว่าจะสามารถเพิ่มพื้นที่ในการปลูกกล้วยได้ แต่ปริมาณกล้วยที่มีคุณภาพอาจไม่เพียงพอกับความต้องการส่งออก หรือคุณภาพมาตรฐานของกล้วยที่จะส่งออก จะไม่ผ่านมาตรฐานของตลาดกล้วยที่มีความประณีตในด้านนี้ นอกจากนั้นประเทศไทยยังขาดนโยบายที่มีความแน่ชัดอย่างจริงจัง ในการพัฒนากล้วยเพื่ออุตสาหกรรม

การส่งออก แม้ว่าจะมีเอกชนบางรายเริ่มดำเนินการแล้วบางส่วน ประเทศเกาหลีเป็นตลาดที่ประเทศไทยให้ความสนใจมาก เพราะมีความต้องการนำเข้ากล้วยมากในอนาคต ซึ่งถ้าประเทศไทยได้มีการเตรียมการ เพิ่มการผลิตเข้าสู่ตลาดเหล่านี้ ก็จะเป็นผลดีต่อประเทศไทย แต่ทั้งนี้ควรคำนึงถึงปริมาณการผลิตและความต่อเนื่อง ตลอดจนคุณภาพด้วย ในการขยายการผลิตจึงต้องคำนึงถึงความต้องการในการบริโภคภายในประเทศ และการส่งออกที่เพิ่มขึ้น รวมทั้งโครงสร้างการตลาดที่สามารถช่วงชิงได้ ถ้ามีการวางแผนการผลิตและการตลาดที่ดี โดยความร่วมมือของภาครัฐบาล เอกชน และเกษตรกรอย่างจริงจัง โอกาสการผลิตกล้วยเพื่อการส่งออกก็อาจเป็นจริงได้ กล้วยที่จะผลิตออกสู่ตลาดระหว่างกล้วยซึ่งเป็นที่นิยมกันในตลาดโลก กับกล้วยพื้นบ้านของไทยที่ประชาชนนิยม ควรมีการพัฒนาศักยภาพและวิเคราะห์ทุกด้าน ถึงผลดีที่จะได้รับในการจัดทำเป็นแผนพัฒนากล้วยต่อไป เพราะกล้วยเป็นผลไม้เมืองร้อนที่มีการค้าขายในด้านปริมาณ และมูลค่ามากที่สุดในตลาดโลก สำหรับสถิติเกี่ยวกับการผลิต การส่งออก และมูลค่าของกล้วยในประเทศไทย แสดงในตารางที่ 2 และ 3

ตารางที่ 2 พื้นที่และผลผลิตกล้วยของประเทศไทยระหว่าง พ.ศ. 2531-2534

ชนิดกล้วย	พ.ศ. 2531-32		พ.ศ. 2532-33		พ.ศ. 2533-34	
	เนื้อที่ (ไร่)	ผลผลิต (กก.)	เนื้อที่ (ไร่)	ผลผลิต (กก.)	เนื้อที่ (ไร่)	ผลผลิต (กก.)
กล้วยไข่	77,236	103,967	70,328	103,732	69,092	101,619
กล้วยน้ำว้า	870,149	650,693	790,837	901,401	692,367	872,040
กล้วยหอม	88,507	95,096	60,069	79,976	57,728	81,888

ที่มา : สงบ (2536)

ตารางที่ 3 ปริมาณและมูลค่าการส่งออกของกล้วยในประเทศไทยระหว่าง พ.ศ. 2532-2535

ปริมาณ : เมตริกตัน มูลค่า : ล้านบาท

ผลิตผล	พ.ศ. 2532		พ.ศ. 2533		พ.ศ. 2534		พ.ศ. 2535	
	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า	ปริมาณ	มูลค่า
กล้วย (ผลไม้สด)	3,623	23.95	2,435	18.60	2,140	16.99	2,180	16.12
กล้วย (กระป๋อง)	245	4.73	356	6.95	387	7.95	357	7.04
กล้วยแปรรูปที่ใช้น้ำตาล	242	13.33	127	7.34	93	5.28	140	7.55

ที่มา : สงบ (2536)

วิธีดำเนินการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้ จำเป็นต้องกระทำในห้องปฏิบัติการสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยเฉพาะ ดังนั้นจึงต้องใช้สถานที่และวัสดุอุปกรณ์ต่างๆหลายอย่างดังนี้คือ

วัสดุอุปกรณ์

วัสดุ

1. หน่อกล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่อง จำนวน 270 หน่อ
2. สารเคมี รวม 3 ประเภท คือ

ประเภทที่ 1 ใช้สำหรับฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ เอทธิลแอลกอฮอล์ คลอรอกซ์ และสารเปียกใบ Teepol

ประเภทที่ 2 ใช้สำหรับเตรียมอาหาร เช่น แอมโมเนียมไนเตรต แคลเซียมคลอไรด์ แมกนีเซียมซัลเฟต โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต โพแทสเซียมไนเตรต กรดบอริก คอปเปอร์ซัลเฟต แมงกานีสซัลเฟต โพแทสเซียมไอโอไดด์ โซเดียมโมลิบเดต ซิงค์ซัลเฟต โซเดียมเอทธิลีน ไดอะมีนเตตตราอะซิเตต เฟอรัสซัลเฟต ไกลซีนมีโซอินโนซิตอล นิโคตินิคแอซิด ไพริดอกซิน-ไฮโดรคลอไรด์ ไทอามีนไฮโดรคลอไรด์ ซูโครส และวุ้น

ประเภทที่ 3 สารเคมีที่ใช้ควบคุมการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อคือ

กลุ่มออกซิน ได้แก่ IBA

กลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ ไคเนติน และ BA

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องทำน้ำกลั่น (water distiller) เพื่อกลั่นน้ำไว้สำหรับเตรียมอาหาร และเตรียมน้ำยาฟอกฆ่าเชื้อ
2. เครื่องชั่ง (balance) ใช้สำหรับชั่งสารเคมีต่างๆในการเตรียมอาหาร มี 2 เครื่อง คือ เครื่องชั่งอย่างละเอียด สามารถชั่งได้เป็นมิลลิกรัม ใช้ชั่ง

สารเคมี วิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโต ส่วนเครื่องชั่งหยาบ ชั่งได้เป็นกรัม ใช้สำหรับชั่งวุ้นและน้ำตาล

3. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (P^H meter) ใช้สำหรับทดสอบค่าพีเอชของอาหารในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

4. เตาแก๊ส ใช้สำหรับต้มอาหารให้วุ้นละลาย

5. หม้อนึ่งความดัน (autoclave) ไฟฟ้าและแก๊ส ใช้สำหรับนึ่งอาหาร น้ำ และเครื่องมือผ่าตัดเนื้อเยื่อเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ใช้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-20 นาที

6. ตู้อบแห้ง (oven) ใช้สำหรับอบเครื่องแก้วเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

7. ตู้เย็น (refigerator) ใช้สำหรับเก็บสารละลาย ของธาตุอาหาร วิตามิน และสารควบคุมการเจริญเติบโต

8. ตู้เก็บสารเคมี

9. ตู้เก็บเครื่องแก้ว

10. ตู้ย้ายเนื้อเยื่อ (tranfer carbinet) ภายในตู้มีบรรยากาศที่ปลอดเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้ระบบกรองอากาศด้านบน มีหลอดไฟฟ้าให้แสงสว่าง

11. ชั้นวางขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ (culture shelf) เป็นชั้นเหล็ก 5 ชั้น ขนาดของชั้นกว้าง 3.6 ฟุต ยาว 20 ฟุต แต่ละชั้นห่างกันประมาณ 2 ฟุต ติดไฟด้วยหลอด cool white ทุกชั้น ความเข้มของแสง 1,000- 2,000 ลักซ์ ให้ช่วงแสง 16 ชั่วโมง ช่วงมืด 8 ชั่วโมงต่อวัน

12. เครื่องเขย่า (shaker) ใช้สำหรับเขย่าฟอกฆ่าเชื้อในการเตรียมเนื้อเยื่อครั้งแรก เคลื่อนที่ในอัตราความเร็ว 120 รอบต่อนาที

13. เครื่องแก้ว

เครื่องแก้วที่ใช้เตรียมอาหาร ได้แก่ กรวยแก้ว (funnel) กระบอกตวง (cylinder) ขนาด 5, 10, 100 และ 1,000 มิลลิลิตร ฟลาส (flask) ปิเปตต์ (pipetle) ขนาด 0.1, 1, 5, และ 10 มิลลิลิตร บีกเกอร์ (beaker) ขนาด 50, 100, 500, และ 1,000 มิลลิลิตร ฯลฯ

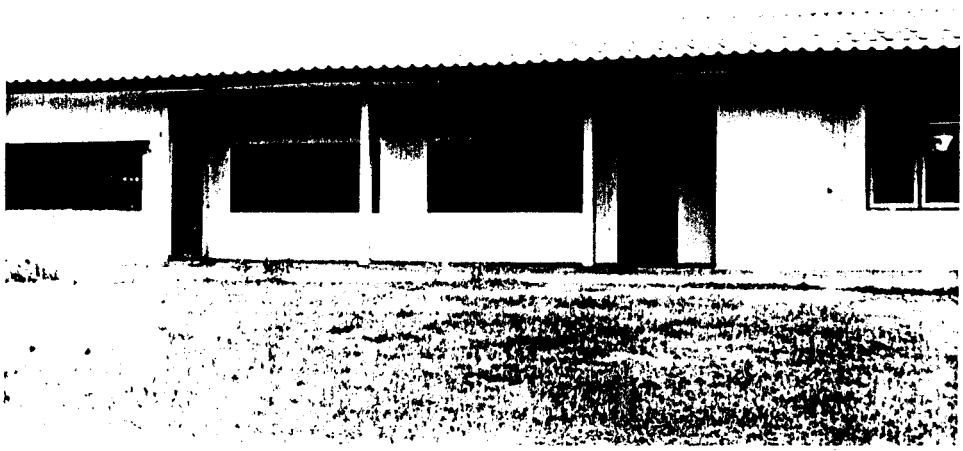
เครื่องแก้วที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้แก่ ฟลาส ขนาด 50 และ 150 มิลลิลิตร หลอดแก้ว (vival) จานเลี้ยงเชื้อ (petri-dish) นอกจากนั้นยังใช้ขวดขนาด 100, 200 และ 250 มิลลิลิตรด้วย

สถานที่ปฏิบัติการ

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จะต้องมีห้องหรือสถานที่พร้อมอุปกรณ์ที่จำเป็นต่างๆ สำหรับใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างครบถ้วน รวมทั้งมีความสะอาด ปลอดจากเชื้อจุลินทรีย์ จึงจะทำให้การปฏิบัติงานประสบผลสำเร็จ มีคุณภาพตามเป้าหมาย ในการวิจัยครั้งนี้ใช้ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของ สถาบันราชภัฏพิบูลสงคราม พิษณุโลก เป็นสถานที่ปฏิบัติงาน ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทั่วๆไป โดยประกอบด้วยส่วนที่สำคัญ 3 ส่วน ตามที่ อรดี (2533) กล่าวไว้คือ

1. **ห้องเตรียมอาหาร** (preparation room)

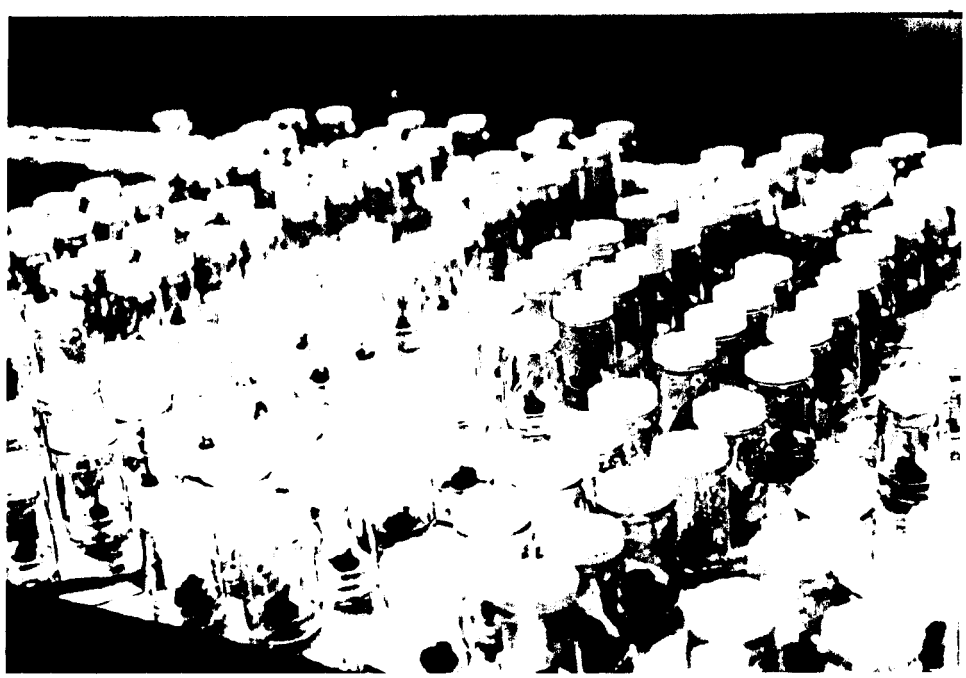
ภายในห้องมีเครื่องมือและอุปกรณ์ สำหรับใช้เตรียมอาหาร โดยจัดให้อยู่ในลำดับที่สามารถเตรียมอาหารได้สะดวกรวดเร็ว ภายในห้องมีเครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ ได้แก่ เครื่องทำน้ำกลั่น เครื่องชั่ง เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง เตาไฟฟ้า และเตาแก๊ส หม้อนึ่งความดัน ตู้อบแห้ง ตู้เย็น ตู้เก็บสารเคมี ตู้เก็บเครื่องแก้ว อ่างล้างเครื่องแก้ว และโต๊ะเตรียมอาหาร



ภาพที่ 3 อาคารปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สถาบันราชภัฏพิบูลสงคราม

ภาพที่ 4 ห้องเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อภายในอาคาร

ภาพที่ 5 ตู้ย้ายเนื้อเยื่อใช้สำหรับปฏิบัติการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อและเปลี่ยนอาหาร



ภาพที่ 6 ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อใช้สำหรับวางขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหลังปฏิบัติการแล้ว

2. **ห้องย้ายเนื้อเยื่อ** (tranfer room)

เป็นห้องปรับอากาศ มีโต๊ะสำหรับวางตู้ย้ายเนื้อเยื่อ ใช้สำหรับการปฏิบัติงานเปลี่ยนอาหารหรือย้ายเนื้อเยื่อทุกครั้ง

3. **ห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อ** (culture room)

เป็นห้องปรับอากาศอุณหภูมิภายในห้องประมาณ 25-28 องศาเซลเซียส ภายในห้องมีชั้นวางขวดเลี้ยงเนื้อเยื่อ และเครื่องเขย่า

ระยะเวลาทำการวิจัย

เริ่มดำเนินงานวิจัยตั้งแต่ เดือนตุลาคม พ.ศ. 2536 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2538 รวมระยะเวลาทำการวิจัย 1 3/4 ปี

แผนการดำเนินงานวิจัย

เริ่มดำเนินงานวิจัยตั้งแต่ เดือนตุลาคม พ.ศ. 2536 ถึงเดือน มิถุนายน พ.ศ. 2538 รวมระยะเวลาประมาณ 1 3/4 ปี โดยมีแผนงานวิจัยดังนี้คือ

แผนการดำเนินงานวิจัย

ลำดับที่	ระยะเวลา	การดำเนินงาน
1	ต.ค. 2536	เตรียมศึกษาค้นคว้าเอกสารและงานที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย
2	พ.ย.-ธ.ค. 2537	เตรียมวัสดุอุปกรณ์และติดต่อคัดเลือกหน่อกล้วยจากเกษตรกร
3	ม.ค.-ส.ค. 2537	ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยในห้องปฏิบัติการ
4	ก.ย.-ธ.ค. 2537	วิเคราะห์ข้อมูล
5	ม.ค.-มี.ค. 2538	เขียนรายงานผลการวิจัย
6	เม.ย.-พ.ค. 2538	พิมพ์และจัดทำรูปเล่ม

การดำเนินงานวิจัย

มีขั้นตอนการดำเนินงานตามลำดับขั้น ดังนี้คือ

ขั้นเตรียมการ

1. เตรียมศึกษาเอกสารต่างๆที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

2. ติดต่อเกษตรกรเจ้าของสวนกล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่อง ที่บ้านเกาะคู ตำบลเกาะคู อำเภอบางกระทุ่ม จังหวัดพิษณุโลก เมื่อวันที่ 23 พฤศจิกายน พ.ศ. 2536 เพื่อศึกษาข้อมูลต่างๆของกล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่อง เช่น ประวัติความเป็นมา คุณสมบัติ สภาพพื้นที่ปลูก ตลอดจนสภาพการดำเนินงานในปัจจุบัน รวมทั้งเตรียมคัดเลือกหน่อกล้วยที่ต้องการใช้ ตามวัตถุประสงค์ซึ่งตั้งไว้ คือ เป็นหน่อที่สมบูรณ์ ไม่เป็นโรค มีลักษณะใบดาบ รวม 3 ขนาดคือ ขนาดเล็ก (สูง ~ 20 ซม.) ขนาดกลาง (สูง ~ 50 ซม.) ขนาดใหญ่ (สูง ~ 70 ซม.) รวมทั้งสิ้น 270 หน่อ

3. เตรียมวัสดุอุปกรณ์ต่างๆที่ต้องใช้ในการปฏิบัติงาน เช่น สารเคมี ขวดสำหรับใส่อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เครื่องมือเครื่องใช้ต่างๆ ฯลฯ ให้เพียงพอต่อการปฏิบัติงาน

ขั้นปฏิบัติงาน

เริ่มปฏิบัติงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยในห้องปฏิบัติการ เมื่อวันที่ 12 มกราคม พ.ศ. 2537 สิ้นสุดงานในห้องปฏิบัติการเมื่อวันที่ 16 สิงหาคม พ.ศ. 2537 รวมระยะเวลาที่กระทำในห้องปฏิบัติการทั้งสิ้น ประมาณ 7 เดือน หรือ 31 สัปดาห์ การดำเนินงานปฏิบัติตามขั้นตอนดังนี้คือ

1. เตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย โดยใช้สูตรอาหารที่ เบญจมาศ (2534) กล่าวไว้ว่าเป็นสูตรที่ได้รับความสำเร็จมากคือ สูตรอาหาร Murashige และ Skoog (1962) ที่ดัดแปลงโดยเพิ่มสารเคมีในอัตราต่างๆลงไปด้วย รวม 3 สูตร ดังนี้คือ

ภาพที่ 7 สภาพสวนกล้วยของเกษตรกรที่บ้านเกาะดู อำเภอบางกระทุ่ม

ภาพที่ 8 การขุดหน่อกล้วยเพื่อนำมาใช้ปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ภาพที่ 9 ลักษณะหน่อกล้วยที่มีความสูงต่างกัน 3 ระดับ เพื่อนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ภาพที่ 10 การลอกกาบกล้วยก่อนนำมาใช้ปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

สูตร I Ms + น้ำมะพร้าว 15 % + BA 5 มก./ลิตร.

สูตร II MS + Kn 2.5 มก./ลิตร. + BA 2.5 มก./ลิตร.

สูตร III MS + Kn 2.5 มก./ลิตร. + IBA 2.5 มก./ลิตร.

วิธีการเตรียมอาหาร กระทำโดยจัดเตรียมธาตุอาหารหลัก ธาตุอาหารเสริมเป็นสารละลายเข้มข้นเก็บไว้ เมื่อต้องการใช้จึงนำมาผสมกับฮอร์โมน วุ้น น้ำตาล และน้ำมะพร้าว ตามอัตราส่วนที่ต้องการในแต่ละสูตร โดยใช้วุ้นจำนวนร้อยละ 0.6 และน้ำตาลร้อยละ 3 นำอาหารที่เตรียมได้บรรจุขวดขนาด 100 มิลลิลิตร ขวดละ 20 มิลลิลิตร ในระยะเริ่มแรก ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1-8 ส่วนระยะหลังตั้งแต่สัปดาห์ที่ 9-31 ใช้ขวดขนาด 200 และ 250 มิลลิลิตร บรรจุอาหารขวดละ 50 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำขวดที่บรรจุอาหารแล้วไปนึ่งฆ่าเชื้อ ด้วยหม้อนึ่งความดันไฟฟ้า เพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ โดยใช้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

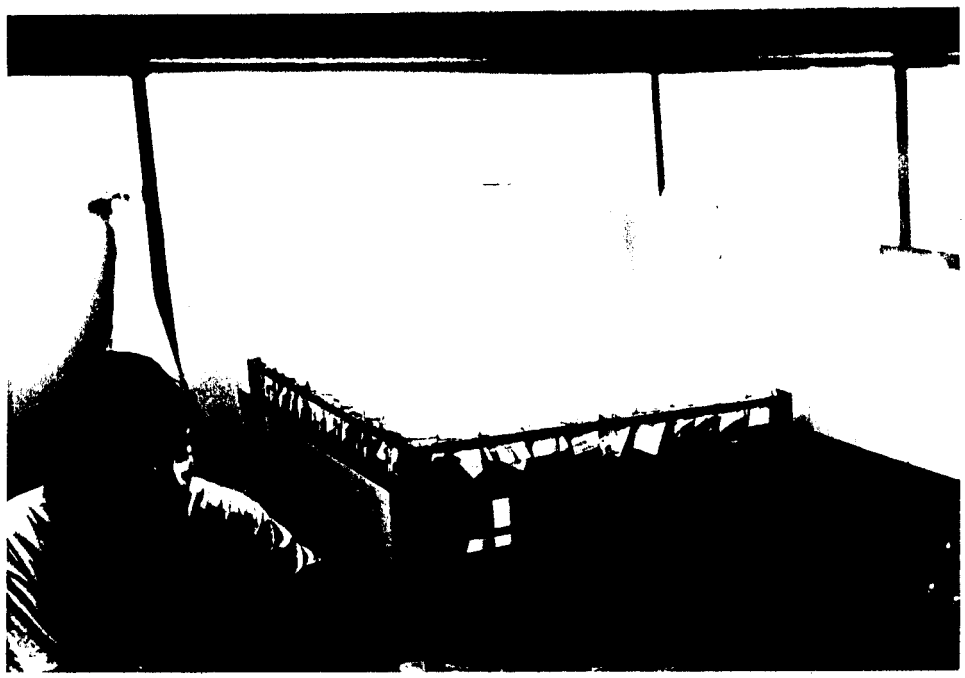
2. นำหน่อกล้วยที่ได้คัดเลือกมาจากสวนเตรียมไว้ ทั้ง 3 ขนาด มากระทำดังนี้คือ

2.1 ลอกกาบออกประมาณ 2-5 กาบ ตัดส่วนยอดและโคนทิ้ง โดยให้จุดเจริญคงเหลืออยู่ขนาดประมาณ 3 นิ้ว แล้วล้างน้ำให้สะอาด

2.2 กระทำซ้ำอีกครั้ง แต่ลอกออกเพียง 1-2 กาบ ตัดส่วนยอดและโคนทิ้ง ให้จุดเจริญคงเหลืออยู่ขนาดประมาณ 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร ขณะตัดและลอกกาบนั้นล้างชิ้นส่วนด้วยน้ำสะอาด เช็ดใบมีดด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 70

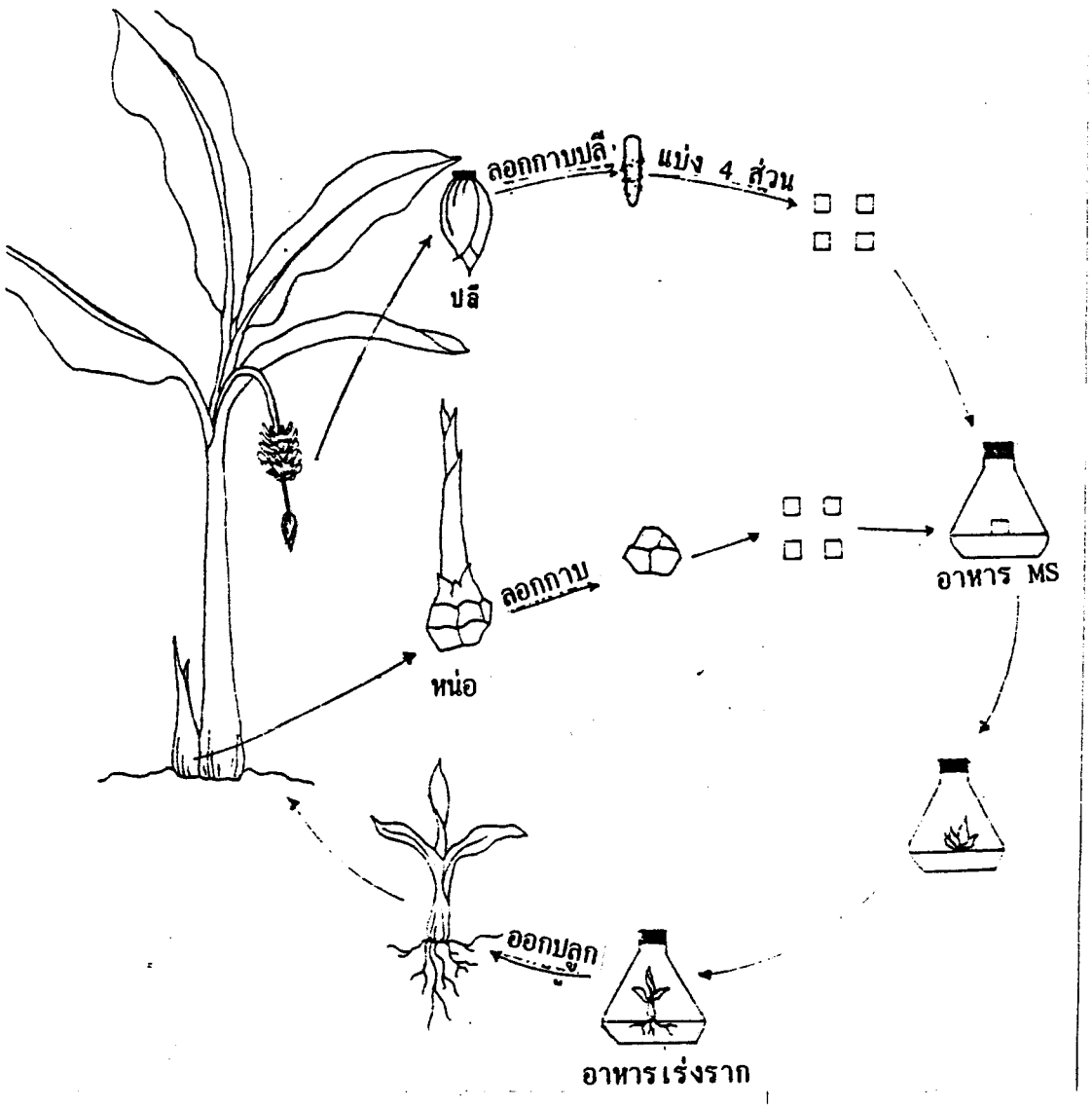
2.3 นำชิ้นส่วนฆ่าเชื้อในสารละลาย Teepol ร้อยละ 10 (ใช้ปากคีบคีบชิ้นส่วน แกว่งในสารละลาย 3-4 ครั้ง แล้วยกขึ้น)

2.4 นำชิ้นส่วนที่ได้แช่ในสารละลายคลอรอกซ์ ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 20 วางบนเครื่องเขย่าเป็นเวลานาน 15 นาที เพื่อให้คลอรอกซ์ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่



ภาพที่ 11 การเตรียมอาหารสำหรับใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ภาพที่ 12 การนึ่งอาหารเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยหม้อนึ่งความดันไฟฟ้า



ภาพที่ 13 วงจรการขยายพันธุ์กล้วยด้วยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ที่มา : เบญจมาศ (2534)

ติดมาได้ดียิ่งขึ้น

2.5 นำชิ้นส่วนดังกล่าวล้างด้วยน้ำกลั่น ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง เพื่อให้สารละลายคลอรอกซ์ที่ติดอยู่หมดไป กระทำในตู้ปลอดเชื้อ

2.6 นำชิ้นส่วนที่ได้มาลอกกาบอีก โดยแบ่งเป็น 3 วิธีการคือ

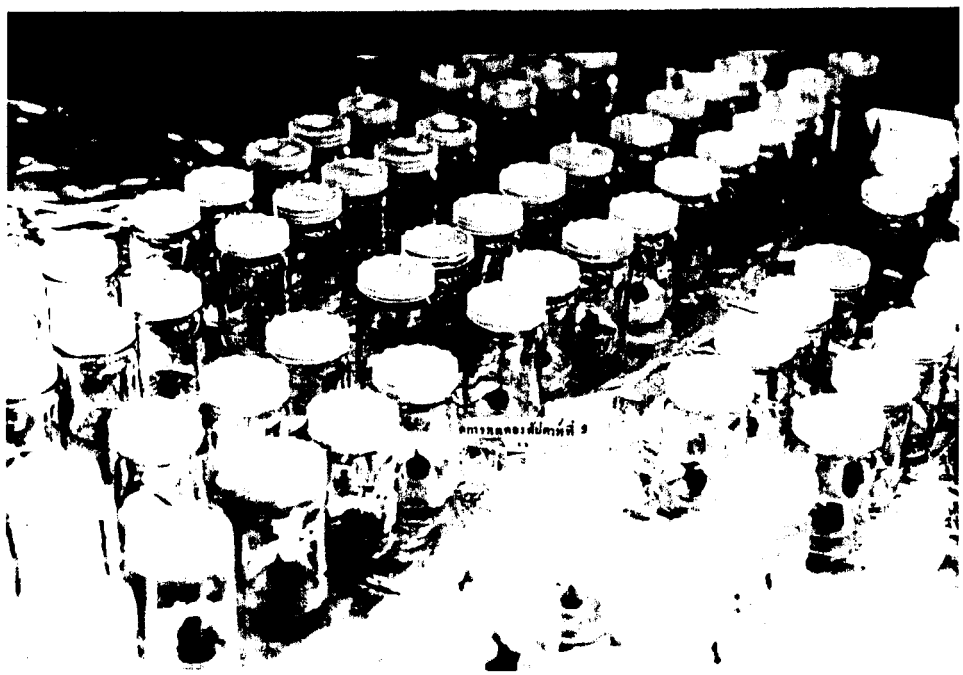
วิธีที่ 1 ใช้มีดผ่าตัดและปากคีบที่สะอาดนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จุ่มแอลกอฮอล์เผาไฟอีกครั้งก่อนใช้ ลอกกาบออกจนกระทั่งเหลือจุดเจริญเป็นรูปโดม (คล้ายปลายดินสอ) วางลงบนอาหารที่เตรียมไว้ในขวด โดยให้ส่วนยอดชี้ไปทางด้านบน ชิ้นละ 1 ขวด ต่อ 1 สูตรอาหาร ปิดฝาให้เรียบร้อย ทำซ้ำกันสูตรอาหารละ 10 ขวด ทั้ง 3 สูตรอาหาร (รวม 30 ตัวอย่าง) และกับหน่อทั้ง 3 ขนาด ตัวอย่างประเภทนี้รวมทั้งสิ้น 90 ตัวอย่าง

วิธีที่ 2 ปฏิบัติการเหมือนเดิมตั้งแต่ข้อ 2.1-2.5 หลังจากนั้นกระทำเหมือนวิธีที่ 1 แต่ลอกกาบอีก 1-2 กาบ พร้อมกับตัดส่วนยอดและส่วนโคน ให้เหลือจุดเจริญขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร วางบนอาหาร 1 ชิ้นต่อ 1 ขวด ทั้ง 3 สูตรอาหาร และหน่อทั้ง 3 ขนาด รวมจำนวนตัวอย่างประเภทนี้ 90 ตัวอย่าง

วิธีที่ 3 ทำเหมือนวิธีที่ 2 ทุกประการ แต่ชิ้นส่วนของหน่อกล้วยที่ได้ลอกกาบ ตัดยอดตัดโคนจนเหลือขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตรนั้น ตัดแบ่งชิ้นส่วนตามความยาวเป็น 4 ชิ้น แต่ละชิ้นให้มีจุดเจริญอยู่ด้วย ทำในลักษณะเดียวกันนี้ทั้ง 3 สูตรอาหาร และหน่อทั้ง 3 ขนาด ดังนั้น 1 หน่อจะมีชิ้นส่วนของกล้วยขวดละ 4 ชิ้น รวมจำนวนตัวอย่างทั้งหมด 90 ตัวอย่างเช่นกัน

3. นำขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่ปิดฝาเรียบร้อยแล้ว วางไว้ในห้องสำหรับเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่มีอุณหภูมิภายในห้องประมาณ 25-28 องศาเซลเซียส ความเข้มของแสง 1,000-2,000 ลักซ์ ให้ช่วงแสง 16 ชั่วโมง ช่วงมืด 8 ชั่วโมงต่อวัน

4. ย้ายชิ้นส่วนเนื้อเยื่อลงบนอาหารขวดใหม่ในสูตรเดิม ทุก 4 สัปดาห์ หลังจากย้ายชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ลงบนอาหารที่เปลี่ยนใหม่ครั้งที่ 2 (หลังสัปดาห์ที่ 8) ทำ



ภาพที่ 14 ส่วนหนึ่งของขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อภายในห้องเพาะเลี้ยงขณะทำการวิจัย

ภาพที่ 15 การบันทึกผลความเปลี่ยนแปลงเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อทุกสัปดาห์

การตัดแบ่งชิ้นส่วนในวิธีการที่ 1,2 ขณะเปลี่ยนอาหารทุกครั้ง จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง

การเก็บข้อมูล

ในการจัดเก็บข้อมูล ใช้วิธีสังเกตพิจารณาการเปลี่ยนแปลงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อและการเจริญเติบโต โดยทำการตรวจนับหรือประเมินค่าข้อมูลเชิงคุณภาพ แล้วนำมาให้ค่าน้ำหนักเป็นข้อมูลเชิงปริมาณเปรียบเทียบกัน ลักษณะต่างๆที่ใช้ประเมินค่า คือ การขยายขนาดของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ และของหน่อที่เจริญขึ้นมาใหม่ การแตกตา ความสมบูรณ์ของหน่อ จำนวนหน่อและขนาดของหน่อที่เพิ่มขึ้น จำนวนใบ ความกว้างความยาวของใบ ฯลฯ ทำการเปรียบเทียบข้อมูลดังกล่าวทั้ง 3 ขนาด 3 วิธีการ และ 3 สูตรอาหารที่ทดลอง ตั้งแต่เริ่มปฏิบัติการจนสิ้นสุดการทดลอง รวม 31 สัปดาห์

การวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลในด้านต่างๆดังนี้คือ

1. ลักษณะเด่นของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่เปลี่ยนแปลงไป
2. ขนาดของหน่อกล้วยที่นำมาใช้ปฏิบัติการ
3. วิธีการตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหน่อกล้วยสำหรับเลี้ยงบนอาหาร
4. สูตรอาหารที่นำมาใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย
5. ปริมาณการแตกตาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกล้วย
6. อัตราการเพิ่มปริมาณหน่อกล้วยและการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

สถิติที่ใช้วิเคราะห์ข้อมูล

ผลที่ได้จากการวิจัยแต่ละขั้นตอน ใช้วิธีเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ย สำหรับปริมาณหน่อที่เพิ่มขึ้น หาความแตกต่างกันตามแผนการทดลองแบบ แฟกทอเรียล (Factorial) และทดสอบด้วยค่า F - test

ผลการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ได้ทำการเก็บข้อมูลทุกสัปดาห์ ตั้งแต่เริ่มงานในห้องปฏิบัติการจนกระทั่งสิ้นสุดกระบวนการ (13 มกราคม 2537 - 17 สิงหาคม 2537) รวมระยะเวลาที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 31 สัปดาห์ หรือประมาณ 7 เดือน ผลที่ได้นำมาวิเคราะห์ในด้านต่างๆดังนี้คือ

1. ลักษณะเด่นของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่เปลี่ยนแปลงไป
2. ขนาดของหน่อกล้วยที่นำมาใช้ปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
3. วิธีการตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหน่อกล้วยสำหรับเลี้ยงบนอาหาร
4. สูตรอาหารที่นำมาใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย
5. ปริมาณการแตกตาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกล้วย
6. อัตราการเพิ่มปริมาณหน่อกล้วยและการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลในหัวข้อต่างๆที่กล่าวมา ปรากฏผลดังนี้คือ

1. ลักษณะเด่นของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่เปลี่ยนแปลงไป

ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่ได้มาจากหน่อขนาดต่างๆทั้ง 3 ขนาด และทำการตัดแบ่งตามวิธีการต่างๆ 3 วิธีการ เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหาร 3 สูตร ลักษณะเด่นของการเปลี่ยนแปลงแต่ละสัปดาห์ ตั้งแต่เริ่มปฏิบัติการจนกระทั่งสิ้นสุดงานในห้องปฏิบัติการ รวม 31 สัปดาห์ มีความแตกต่างกันบ้าง แต่สำหรับลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่คล้ายคลึงกันเมื่อพิจารณาจากทั้ง 31 สัปดาห์นั้น อาจนำมากล่าวสรุปรวมกันได้ 3 ระยะคือ

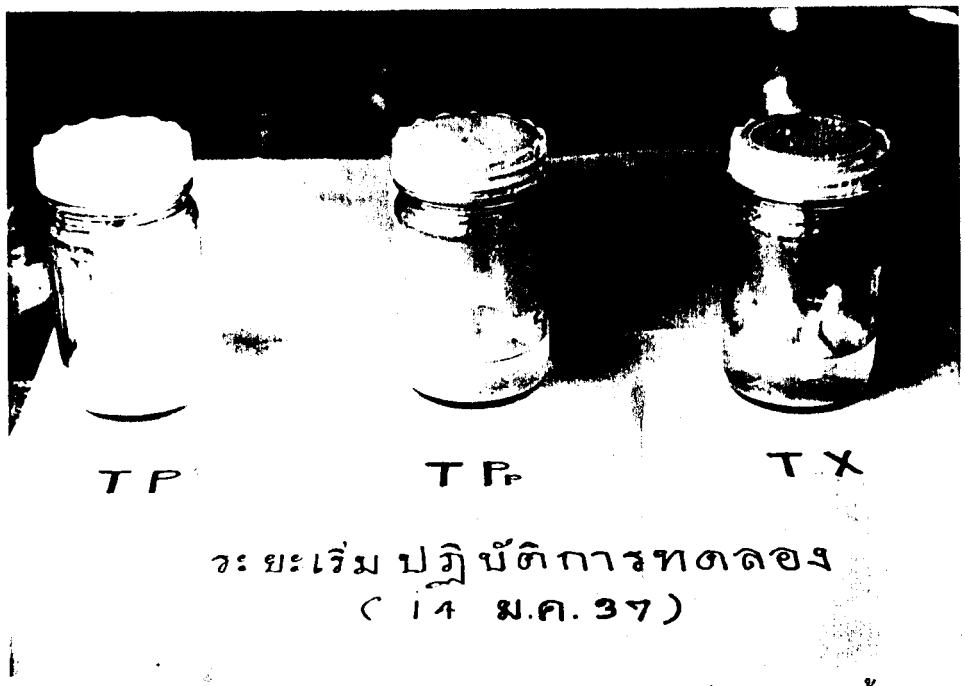
ระยะที่ 1 เป็นสัปดาห์แรกหลังจากเริ่มปฏิบัติการ หรือเป็นสัปดาห์แรกหลังการตัดแบ่งเนื้อเยื่อเพื่อเปลี่ยนอาหาร ในงานวิจัยครั้งนี้ได้แก่ สัปดาห์ที่ 1, 5, 9, 13, 17, 20, 25, และ 28 รวม 8 สัปดาห์ ได้ทำการตรวจนับและบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงต่างๆของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อภายนอกขวดเพาะเลี้ยง สามารถสรุปภาพรวมได้ดังนี้คือ

สัปดาห์ที่ 1 (20 ม.ค. 37) เมื่อพิจารณาจากวิธีการตัดแบ่งทั้ง 3 วิธีการ ขนาดของหน่อทั้ง 3 ขนาด และสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยง 3 สูตร ลักษณะการเปลี่ยนแปลงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมีลักษณะคล้ายคลึงกัน กล่าวคือ ชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อขยายขนาดเพิ่มขึ้นบ้างเล็กน้อยพอสังเกตเห็นได้ แต่ยังไม่มีการแตกตาหรือแตกหน่อปรากฏให้เห็น ฐานของเนื้อเยื่อที่ฝังอยู่ในอาหาร เริ่มมีสีน้ำตาล-ดำ ในสัปดาห์นี้ การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกลุ่ม TPp20 II มีลักษณะเด่นกว่ากลุ่มอื่นๆ

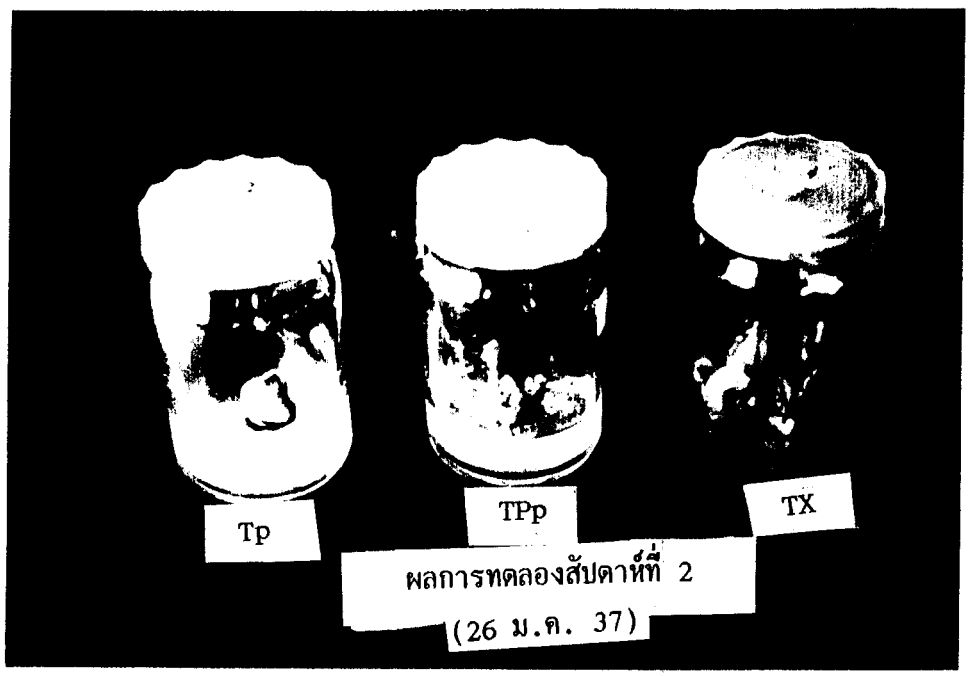
สัปดาห์ที่ 5 (15 ก.พ. 37) การเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อคล้ายคลึงกับสัปดาห์ที่ 1 สิ่งที่สังเกตได้ชัดเจนคือ มีการแตกตาข้างปรากฏให้เห็นเป็นตุ่มขาวๆ นูนออกมา แต่ยังไม่โผล่พ้นผิวให้นับจำนวนได้ ลักษณะดังกล่าวนี้พบมากในตัวอย่างที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตร II

สัปดาห์ที่ 9 (11 มี.ค. 37) การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก แต่การแตกตาปรากฏให้เห็นมากขึ้น โดยเฉพาะในชิ้นส่วนซึ่งเลี้ยงด้วยอาหารสูตร I,II ทั้ง3 วิธีการตัดแบ่งและหน่อกล้วยทั้ง3 ขนาด สามารถนับปริมาณได้ตั้งแต่ 1-7 ตา (เฉลี่ยประมาณ 1-4 ตา) สำหรับชิ้นส่วนซึ่งเลี้ยงในอาหารสูตร III ไม่ค่อยมีการแตกตาปรากฏให้เห็น บางตัวอย่างมีลักษณะคล้ายตาเกิดขึ้น แต่ไม่สามารถโผล่ออกมาได้

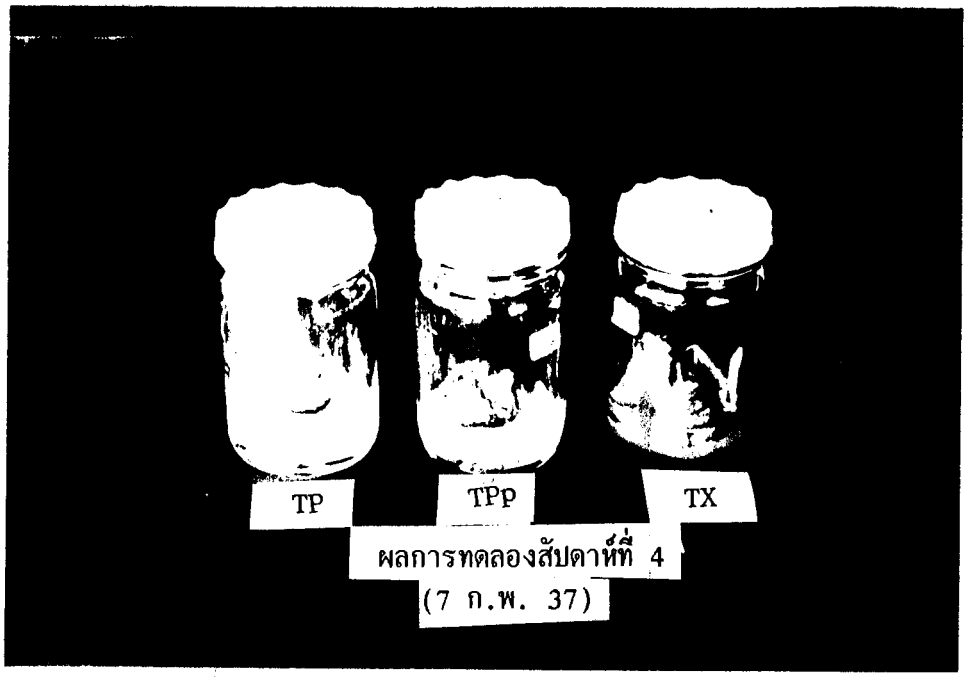
สัปดาห์ที่ 13 (11 เม.ย. 37)ในระยะนี้ลดจำนวนสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อลงเหลือ 2 สูตร คือสูตร I และ II เนื่องจากการเลี้ยงบนอาหารสูตร III เป็นระยะเวลาประมาณ 3 เดือน ทำการเปลี่ยนอาหาร 2 ครั้ง ชิ้นส่วนเกือบไม่มีการเจริญพัฒนาเปลี่ยนแปลง และไม่มีการแตกตาปรากฏให้เห็น เพียงแต่ยังสามารถคงสภาพเดิมได้เท่านั้น ซึ่งเมื่อนำมาตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารใหม่ โดยใช้สูตรซึ่งปฏิบัติจริงในห้องปฏิบัติการปัจจุบัน ก็สามารถเจริญเติบโตขยายพันธุ์ต่อไปได้ สำหรับการเลี้ยงบนอาหารสูตร I,II หลังจากทำการตัดแบ่งในกลุ่มของวิธีการที่ 1 และ 2 ปรากฏว่าการแตกตา



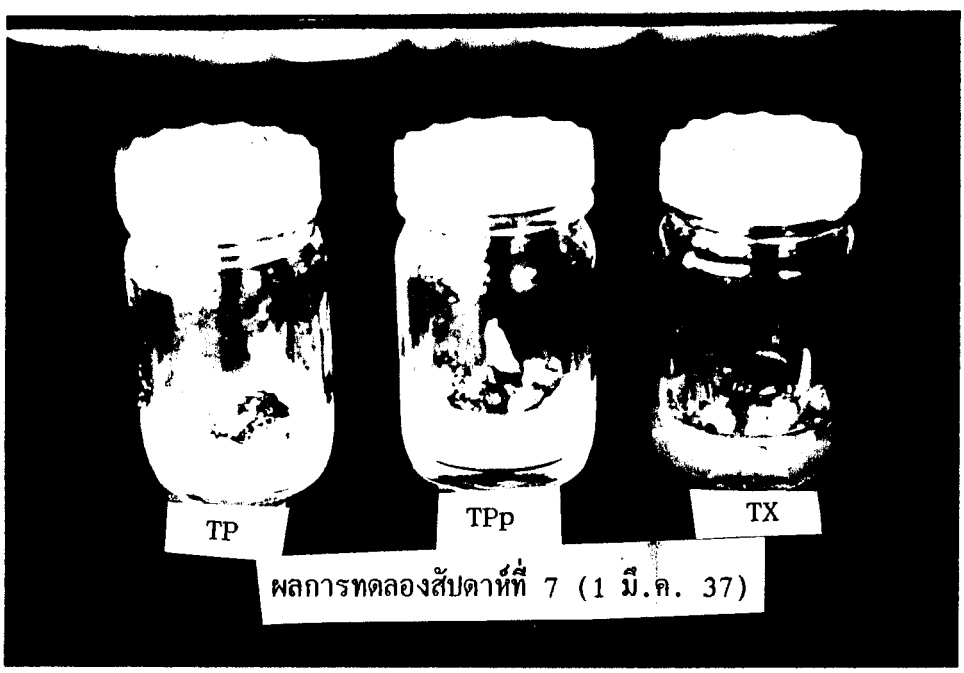
ภาพที่ 16 การตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหน่อกล้วย 3 วิธีการ ในระยะเริ่มปฏิบัติการครั้งแรก



ภาพที่ 17 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกล้วยในสัปดาห์ที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง



ภาพที่ 18 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกล้วยในสัปดาห์ที่ 4 (3 ส หลัง Sub)



ภาพที่ 19 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกล้วยในสัปดาห์ที่ 7 (3 ส หลัง Sub)

ข้างเจริญขึ้นมาอย่างเห็นได้ชัดเจนกว่าเดิม ส่วนวิธีการที่ 3 การเจริญพัฒนายังดำเนินไปอย่างต่อเนื่องตามปกติ

สัปดาห์ที่ 17 (6 พ.ค. 37) ระยะนี้การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนค่อนข้างพัฒนาในด้านการชูหน่อ และแตกใบให้เห็นเพิ่มมากขึ้นกว่าช่วงก่อนในระยะเวลาเดียวกัน บางตัวอย่างในกลุ่มของวิธีการตัดแบ่ง มีใบปรากฏให้เห็น 1-3 ใบ ขนาดของหน่อสูงขึ้น 2-2.5 เซนติเมตร ลักษณะการเจริญพัฒนาของหน่อมีลักษณะคล้ายคลึงกัน ทั้งวิธีการตัดแบ่ง 3 วิธี หรือขนาดของหน่อทั้ง 3 ขนาด และอาหารซึ่งใช้เลี้ยงทั้ง 2 สูตร

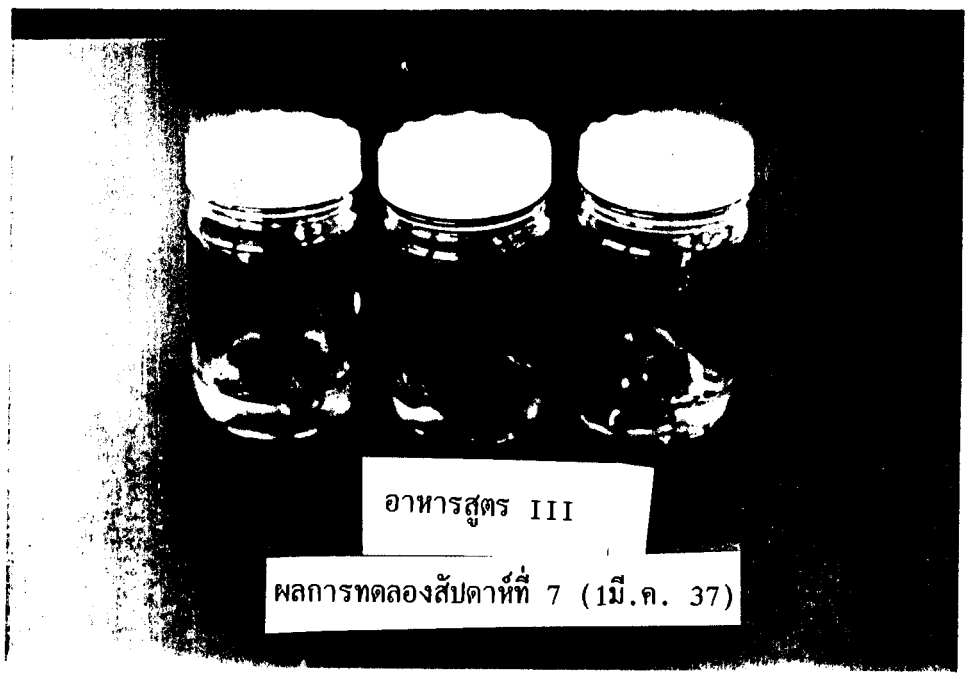
สัปดาห์ที่ 20 (2 มิ.ย. 37) การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ มีการเปลี่ยนแปลงคล้ายสัปดาห์ที่ 17

สัปดาห์ที่ 25 (1 ก.ค. 37) การเจริญพัฒนาของหน่อค่อนข้างดีกว่าระยะอื่นๆที่ผ่านมา โดยเฉพาะในกลุ่ม TP และ TPp จะแตกหน่อดีกว่า TX แต่ในกลุ่ม TX จะมีหน่ออวบอ้วนสมบูรณ์กว่า การแตกหน่อมีปริมาณเพิ่มขึ้นประมาณ 1-3 หน่อต่อชิ้น หน่อสูง 1-2.5 เซนติเมตร

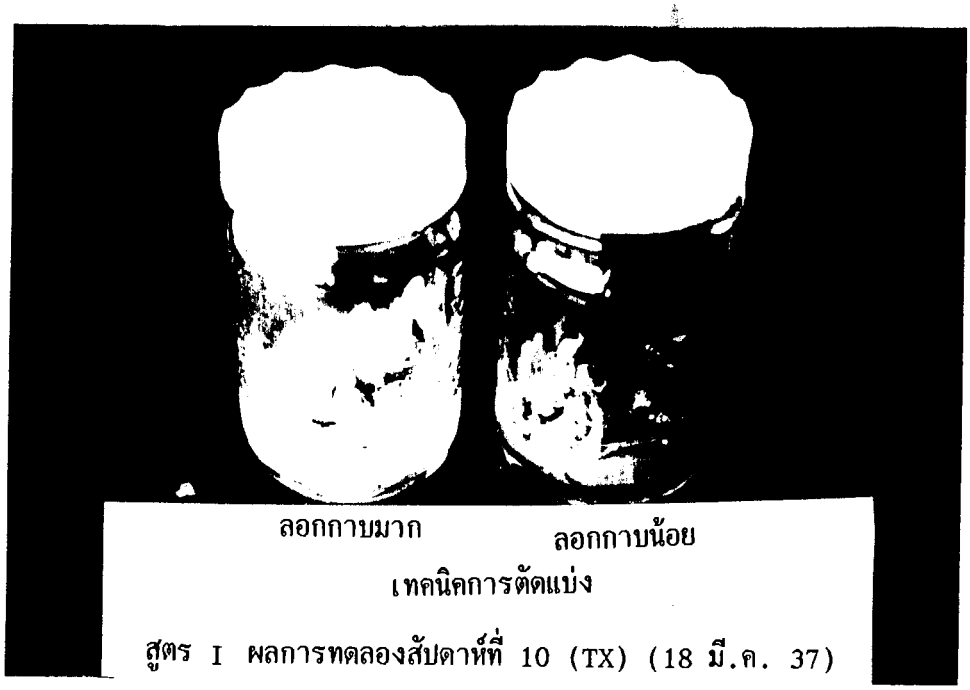
สัปดาห์ที่ 28 (26 ก.ค. 37) การเจริญพัฒนาของหน่อคล้ายสัปดาห์ที่ 25 การแตกหน่อพัฒนาขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเจนประมาณ 2-3 หน่อต่อชิ้น ใบเริ่มคลี่ออกให้เห็น 1-2 ใบต่อหน่อ แต่ยังเป็นใบเล็กๆและสั้น

ระยะที่ 2 เป็นสัปดาห์ที่ 2 หลังจากเริ่มปฏิบัติการครั้งแรก หรือสัปดาห์ที่ 2 หลังการตัดแบ่งเนื้อเยื่อเพื่อเปลี่ยนอาหาร ได้แก่สัปดาห์ที่ 3, 6, 10, 14, 18, 21, 25 และ 30 ตามลำดับ รวมทั้งสิ้น 8 สัปดาห์ ผลการตรวจนับบันทึกการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อภายนอกขวดเพาะเลี้ยง สามารถสรุปภาพรวมแต่ละสัปดาห์ได้ดังนี้คือ

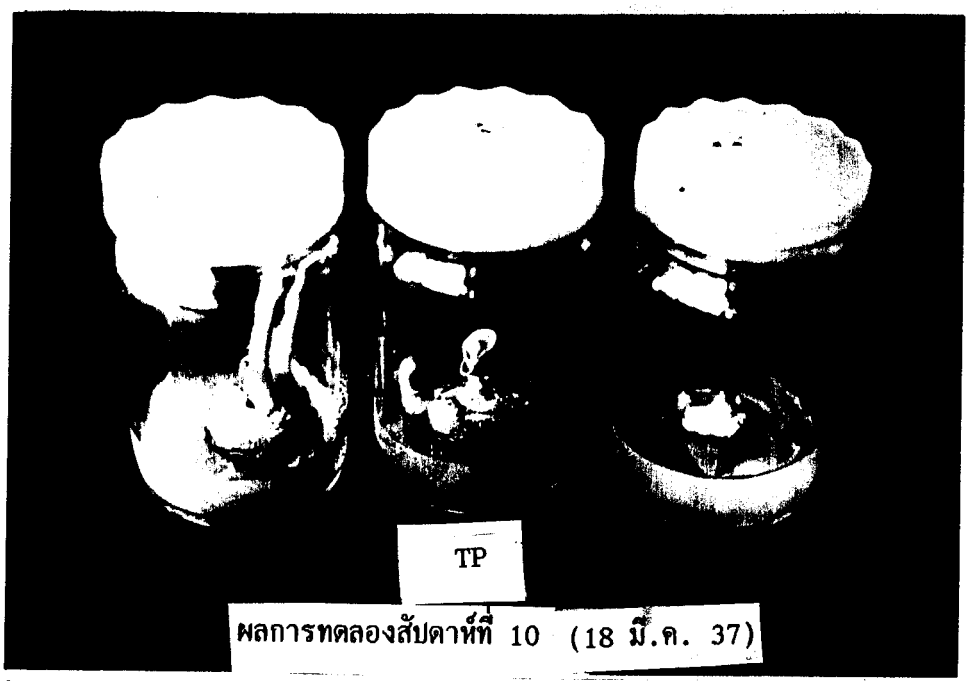
สัปดาห์ที่ 3 (3 ก.พ. 37) การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อขยายขนาดเพิ่มขึ้นมากกว่าระยะแรก โดยเพิ่มขึ้นในระดับปานกลาง ฐานของชิ้นส่วนที่ฝังอยู่ในอาหาร มีสีดำเพิ่มขึ้นมาก โดยเฉพาะชิ้นส่วนซึ่งเลี้ยงบนอาหารสูตร III กาบซึ่งไม่ได้



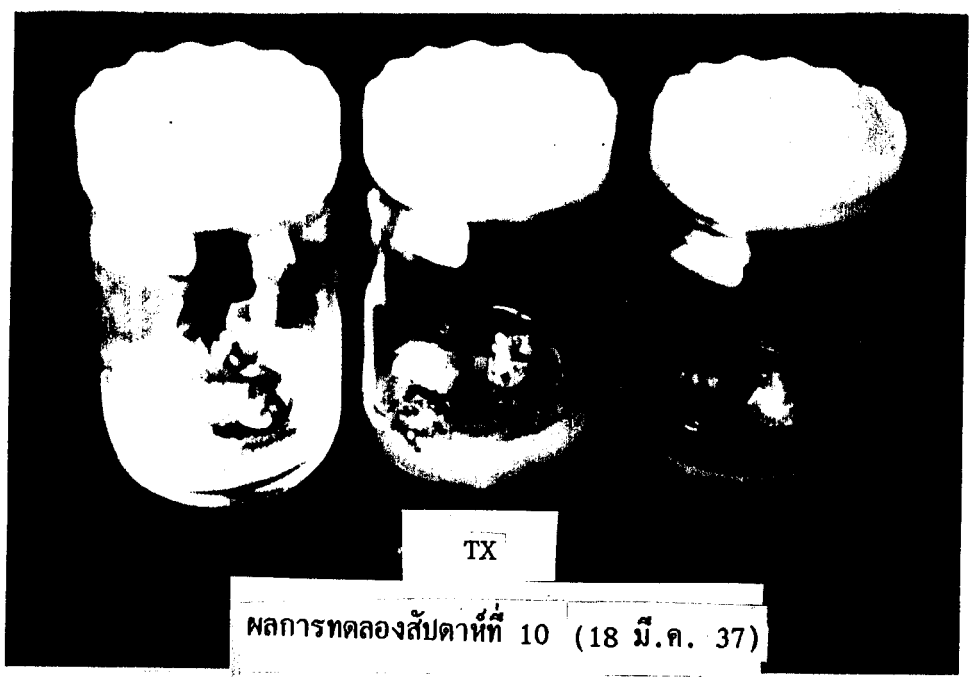
ภาพที่ 20 การเป็นแคลลัสเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ III สัปดาห์ที่ 7(3 ส หลังSub)



ภาพที่ 21 การตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารเมื่อลอกกาบออกมากและลอกกาบออกน้อย



ภาพที่ 22 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกลุ่ม TP สัปดาห์ที่ 10(2 ส หลัง Sub)



ภาพที่ 23 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกลุ่ม TX สัปดาห์ที่ 10(2 ส หลัง Sub)

ลอกออกเมื่อทำการเปลี่ยนอาหาร จะมีสีค่อนไปทางสีแดงคล้ำ และขยายกางออกจากชิ้นส่วนเดิม ชิ้นส่วนซึ่งเลี้ยงบนอาหารสูตร II ค่อนข้างเจริญดีกว่าเลี้ยงด้วยอาหารสูตร I ทุกวิธีการตัดแบ่ง และทุกขนาดของหน่อ

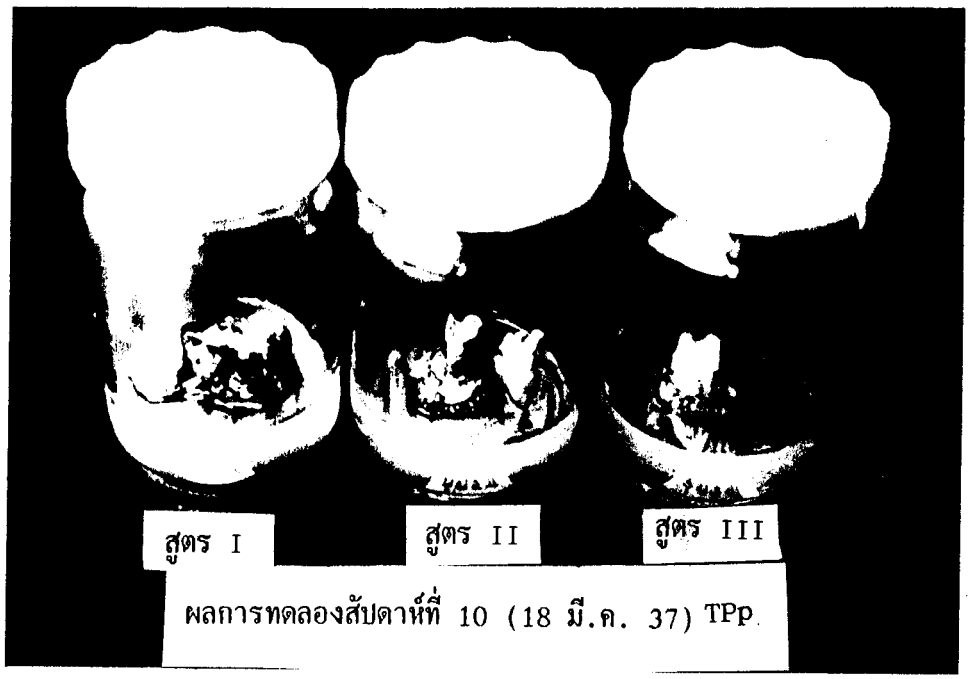
สัปดาห์ที่ 6 (22 ก.พ. 37) การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อขยายขนาดเพิ่มขึ้น ทำให้บางตัวอย่างมีปลายยอดและตาข้างโผล่ให้เห็นบ้างเล็กน้อย ในชิ้นส่วนซึ่งเลี้ยงบนอาหารสูตร I และ II ชิ้นส่วนซึ่งเลี้ยงบนอาหารสูตร III จะเป็นแคลลัส ทำให้มองดูคล้ายไม่มีการเจริญพัฒนา ตายอดหรือตาข้างก็ไม่สามารถโผล่ออกมาให้เห็นได้

สัปดาห์ที่ 10 (18 มี.ค. 37) การเจริญพัฒนาของหน่อขยายขนาดเพิ่มขึ้น มีตายอดและตาข้างโผล่ให้เห็นชัดเจน บางตัวอย่างมีใบเกิดขึ้น 1-2 ใบ ลักษณะอื่นคล้ายสัปดาห์ที่ 6 ชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อที่เลี้ยงบนอาหารสูตร III เป็นแคลลัส ไม่มีการแตกหน่อและแตกตา

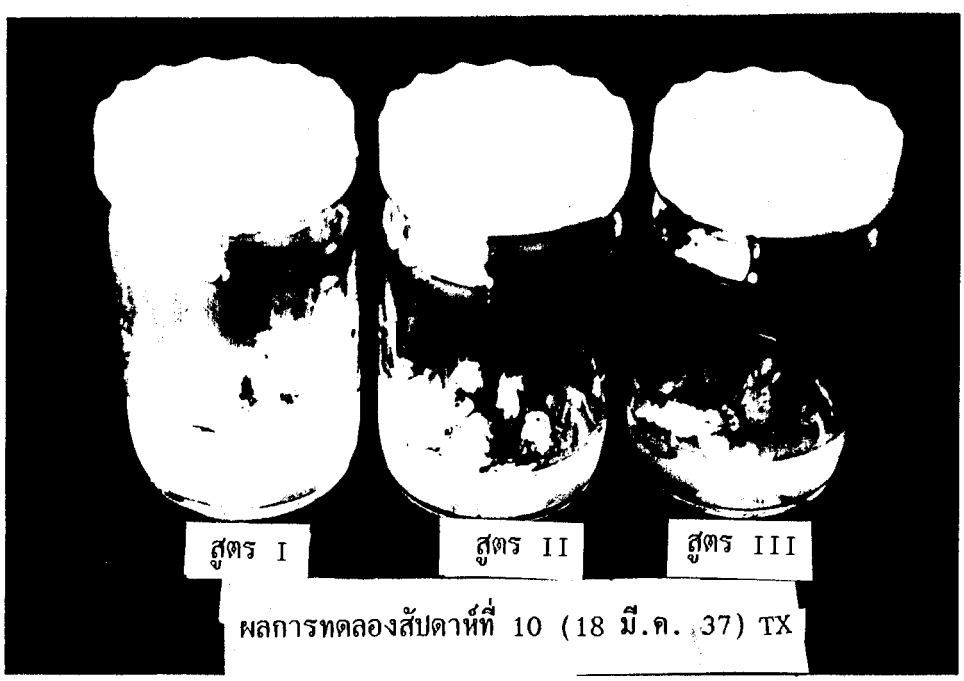
สัปดาห์ที่ 14 (18 เม.ย. 37) การเจริญพัฒนาของหน่อสมบูรณ์กว่าในระยะแรก เกือบทุกตัวอย่างมีใบที่คลี่ออกให้เห็นชัดเจน 1-3 ใบ มีทั้งขนาดเล็กและขนาดใหญ่ กว้างประมาณ 0.2-0.7 เซนติเมตร ลักษณะหน่อมีความสมบูรณ์ สูงเฉลี่ย 0.5-3 เซนติเมตร แต่บางตัวอย่างสูงถึง 5 เซนติเมตร

สัปดาห์ที่ 18 (13 พ.ค. 37) การเจริญพัฒนาของหน่อสมบูรณ์มากกว่าสัปดาห์ที่ผ่านมา โดยมีหน่อชูสูงขึ้น 1.5-5 เซนติเมตร การแตกหน่อของกลุ่ม TP จะมีมากกว่ากลุ่มอื่น ส่วนกลุ่ม TX ส่วนใหญ่เจริญเพียงต้นเดียวจึงดูอวบอ้วนและสมบูรณ์ดีมากกว่ากลุ่มอื่น

สัปดาห์ที่ 21 (9 มิ.ย. 37) การเจริญพัฒนาของหน่อคล้ายสัปดาห์ที่ 14 แต่อาจพัฒนาดีกว่าบ้างเล็กน้อย เพราะบางตัวอย่าง หน่อสูงมากจนเกือบถึงปากขวด (ประมาณ 8-9 เซนติเมตร) และมีใบคลี่ออกชัดเจน การแตกหน่อเพิ่มขึ้นประมาณ 1-2 หน่อต่อชิ้น จึงทำให้มีลักษณะของความเป็นหน่อสมบูรณ์มาก



ภาพที่ 24 เปรียบเทียบการเจริญพัฒนาของกลุ่ม Tpp เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 3 สูตร



ภาพที่ 25 เปรียบเทียบการเจริญพัฒนาของกลุ่ม TX เมื่อเลี้ยงบนอาหาร 3 สูตร

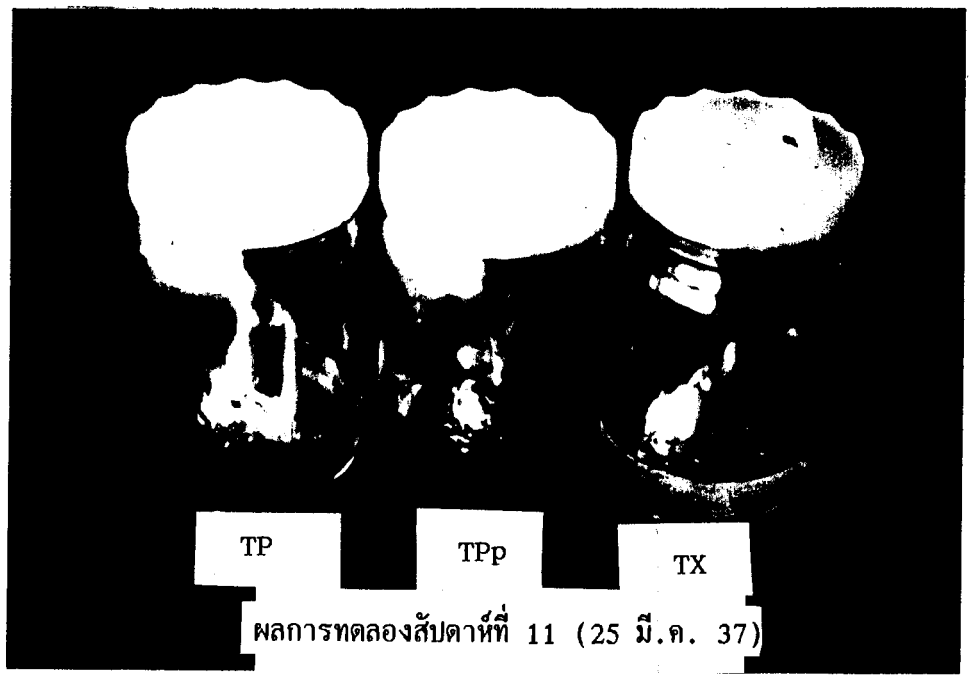
สัปดาห์ที่ 26 (6 ก.ค. 37) การเจริญพัฒนาของหน่อดีมากกว่าสัปดาห์ที่ผ่านมา ใบคลี่ออกชัดเจนประมาณ 1-2 ใบ ยาว 0.5-3 เซนติเมตร กว้างเฉลี่ย 1.5 เซนติเมตร ความสูงของหน่อประมาณ 1.5-7 เซนติเมตร ลำต้นอวบเขียวสมบูรณ์ดี มีการแตกหน่อ 1-3 หน่อต่อชิ้น การเจริญพัฒนามากขึ้นทุกกลุ่มตัวอย่าง

สัปดาห์ที่ 29 (3 ส.ค. 37) ลักษณะการเจริญพัฒนาของหน่อคล้ายสัปดาห์ที่ 25 โดยหน่อเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์สูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเจน มีใบคลี่ออก 1-2 ใบ การแตกหน่อประมาณ 1-3 หน่อต่อชิ้น บางตัวอย่างอาจแตกเป็นกลุ่มหน่อ

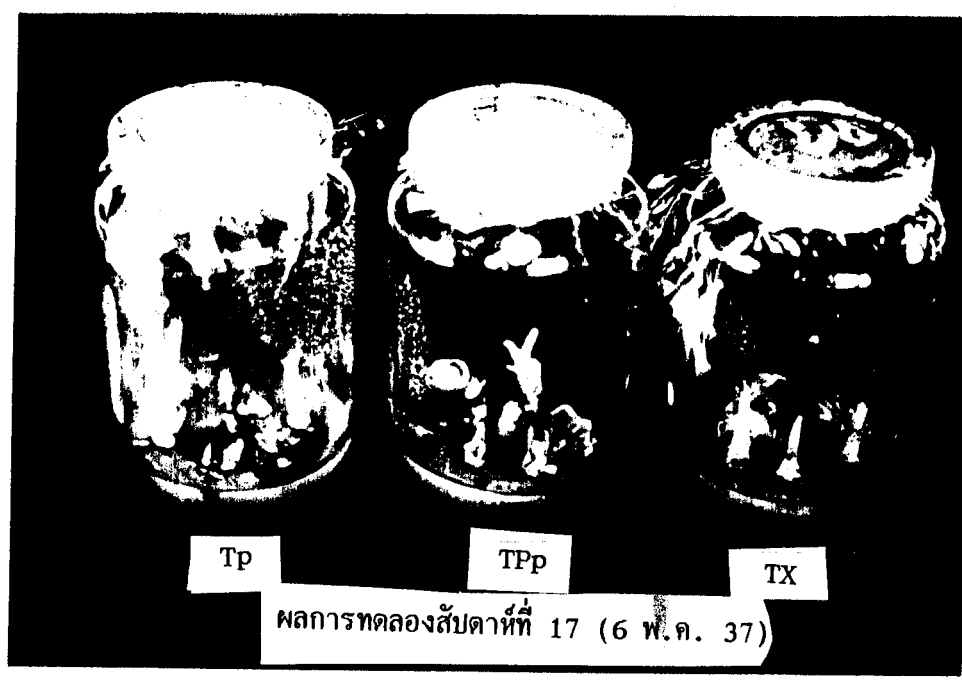
ระยะที่ 3 เป็นสัปดาห์ที่ 3 หลังจากเริ่มปฏิบัติการครั้งแรก หรือเป็นสัปดาห์ที่ 3 หลังจากการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร ซึ่งได้แก่สัปดาห์ที่ 4, 7, 11, 15, 19, 22, 26, และ 31 รวม 8 สัปดาห์ ได้ทำการตรวจนับ และบันทึกผลการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อภายนอกขวดเพาะเลี้ยง สามารถสรุปภาพรวมแต่ละสัปดาห์ได้ดังนี้คือ

สัปดาห์ที่ 4 (7 ก.พ. 37) การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อส่วนใหญ่ เปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นจากสัปดาห์ที่ผ่านมาเพียงเล็กน้อย หรืออาจกล่าวได้ว่าเกือบจะคงที่ หรือชะงักการเจริญพัฒนา ทั้งในด้านขนาดและความสูงของหน่อ ลักษณะดังกล่าวมีความคล้ายคลึงกันทุกประเภทวิธีการตัดแบ่งและกลุ่มขนาดของหน่อ ในด้านสูตรอาหารนั้น ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่ I และ II มีลักษณะคล้ายคลึงกัน แต่ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่เลี้ยงบนอาหารสูตร III เจริญพัฒนาด้อยกว่า นอกจากนั้นลักษณะสีดำซึ่งเกิดบริเวณชิ้นส่วนซึ่งฝังอยู่ในอาหาร บางตัวอย่างสีดำที่เกิดขึ้นขยายเพิ่มขึ้นไป เกือบถึงส่วนยอดของชิ้นส่วน

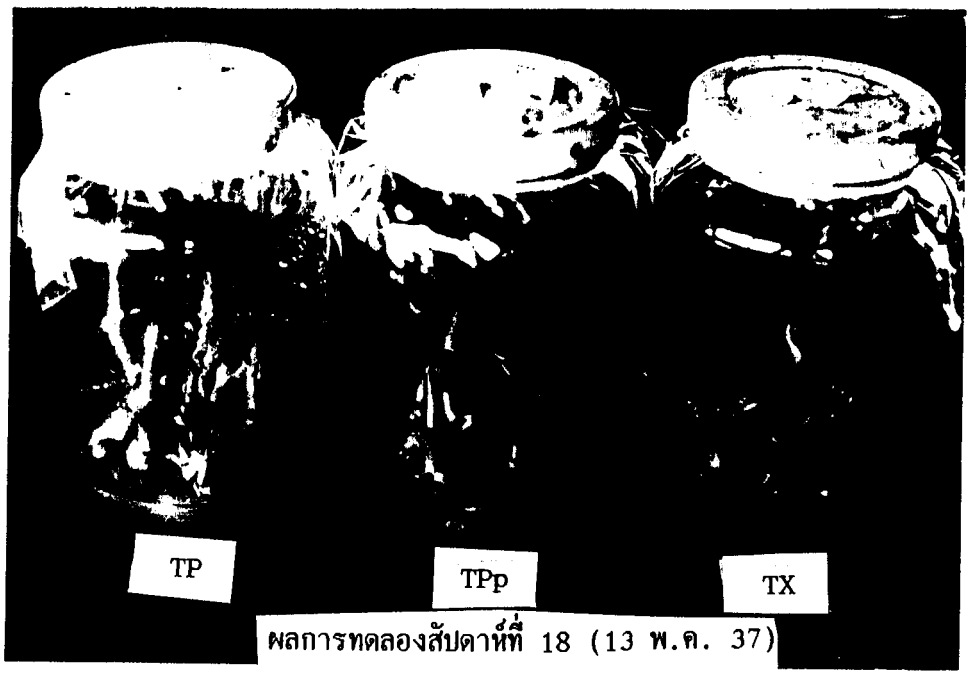
สัปดาห์ที่ 7 (1 มี.ค. 37) การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อคล้ายกับสัปดาห์ที่ผ่านมา โดยไม่ค่อยเปลี่ยนแปลงมากนัก นอกจากบางกลุ่มมีตายอดและตาข้างเจริญโผล่ออกมาให้เห็น โดยเฉพาะในกลุ่ม TP และ TPp จะแตกตาข้างดีกว่า TX สำหรับชิ้นส่วนซึ่งเลี้ยงบนอาหารสูตร III ส่วนใหญ่เป็นแคลลัสเกิดขึ้นชัดเจน ทำให้ไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆเกิดขึ้น



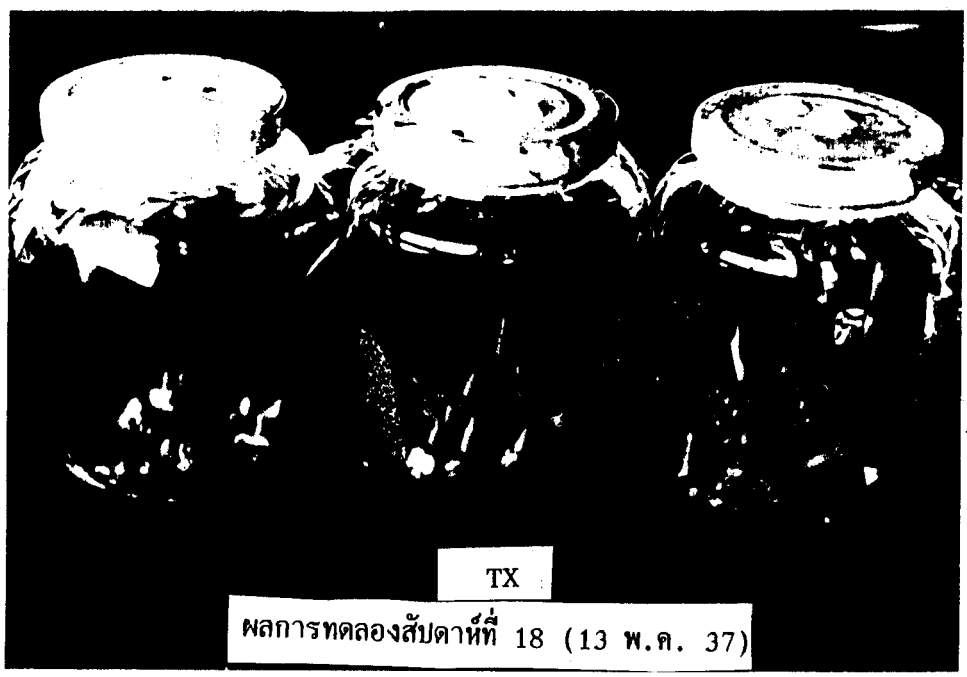
ภาพที่ 26 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อในสัปดาห์ที่ 11 (3 ส หลัง Sub)



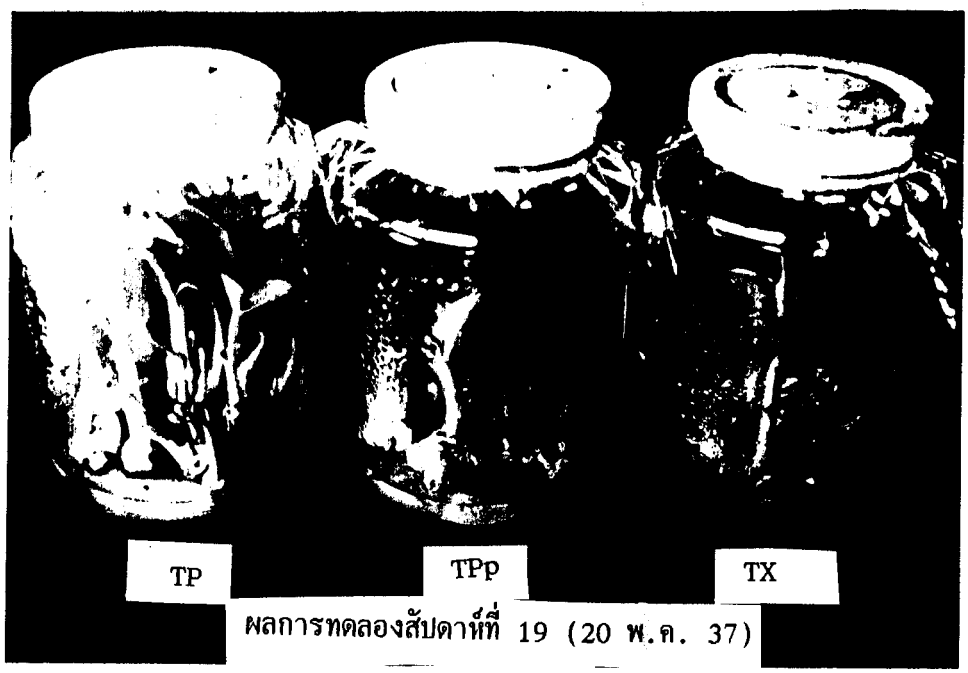
ภาพที่ 27 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อในสัปดาห์ที่ 17 (1 ส หลัง Sub)



ภาพที่ 28 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อในสัปดาห์ที่ 18 (2 ส หลัง Sub)



ภาพที่ 29 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกลุ่ม TX สัปดาห์ที่ 18 (2 ส หลังSub)



ภาพที่ 30 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อในสัปดาห์ที่ 19 (3 ส หลังSub)

ภาพที่ 31 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกลุ่ม TPp สัปดาห์ที่ 19(3 ส หลังSub)

สัปดาห์ที่ 11 (25 มี.ค. 37) การเจริญพัฒนาของหน่อมีมากขึ้น มีใบคลี่ออกประมาณ 1-2 ใบ บางตัวอย่างใบยาวถึง 2.5 เซนติเมตร หน่อชูสูงขึ้นมาก บางตัวอย่างเกือบถึงปากขวด ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อซึ่งเลี้ยงบนอาหารสูตร III ไม่มีพัฒนาการใดๆเกิดขึ้น แต่มีแคลลัสเกิดขึ้นบ้าง

สัปดาห์ที่ 15 (25 เม.ย. 37) การเจริญพัฒนาของหน่อ นับว่ามีความสมบูรณ์มากกว่าสัปดาห์ที่ผ่านมามาก ลักษณะหน่อมีขนาดใหญ่และสูงเพิ่มขึ้น มีการแตกตาทั้งในลักษณะเป็นตุ่มและกำลังโผล่มากขึ้น ใบสีเขียวเข้ม ในภาพรวมชิ้นส่วนซึ่งเลี้ยงบนอาหารสูตร I ดีกว่าเลี้ยงบนอาหารสูตร II บ้างเล็กน้อย ในกลุ่ม TPp มีลักษณะคล้ายกลุ่ม TP โดยหน่ออวบอ้วนสมบูรณ์ดี แต่ในกลุ่ม TX เจริญด้อยกว่าทั้งในด้านขนาดความสูงและการแตกตา

สัปดาห์ที่ 19 (20 พ.ค. 37) การเจริญพัฒนาเป็นหน่อเป็นต้นมีใบที่สมบูรณ์มากขึ้น หน่อสูง 1.5-3 เซนติเมตร มีใบ 1-3 ใบ ส่วนใหญ่คลี่ออกกว้าง 0.5-1 เซนติเมตร ยาว 1-3 เซนติเมตร ในกลุ่ม TX การเจริญเป็นต้นสูงมีใบสมบูรณ์คลี่ออกชัดเจนกว่ากลุ่ม TP และ TPp เมื่อพิจารณาจากสูตรอาหารปรากฏว่า อาหารสูตร I หน่อมีความสมบูรณ์ดีกว่าสูตร II

สัปดาห์ที่ 22 (16 มิ.ย. 37) การเจริญพัฒนาของหน่อเพิ่มมากขึ้น ส่วนใหญ่มีใบ 1-3 ใบ หน่อสูง 1-6 เซนติเมตร การแตกหน่อมีประมาณ 1-3 หน่อต่อชิ้น ในภาพรวมประมาณร้อยละ 70 ของตัวอย่างทั้งหมด มีความสมบูรณ์ดี

สัปดาห์ที่ 26 (13 ก.ค. 37) การเจริญพัฒนาของหน่อค่อนข้างคล้ายคลึงกับสัปดาห์ที่ 22

สัปดาห์ที่ 31 (16-17 ส.ค. 37) การเจริญพัฒนาของหน่อเพิ่มมากขึ้น และมีลักษณะผอมชะลูด สูง 1-6 เซนติเมตร มีใบคลี่ออก 1-3 ใบ กว้าง 0.5-1 เซนติเมตร ยาว 0.7-3 เซนติเมตร เป็นสัปดาห์สุดท้ายของงานในห้องปฏิบัติการ

ได้ตรวจนับจำนวนหน่อครั้งสุดท้าย ปริมาณหน่อเพิ่มขึ้นเฉลี่ยในกลุ่ม TP และ TPpคล้ายคลึงกันคือ ประมาณ 143-154 หน่อ(เฉลี่ย 149 หน่อ)ต่อ 1 หน่อเดิม สำหรับในกลุ่ม TX ปริมาณหน่อที่ได้เพิ่มขึ้นประมาณ 358-445 หน่อ (เฉลี่ย 402 หน่อ) ต่อ 1 หน่อเดิม

2. **ขนาดของหน่อกล้วยที่นำมาใช้ปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ**

หน่อกล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่องที่นำมาใช้ปฏิบัติการขยายพันธุ์ โดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อครั้งนี้ แบ่งออกเป็น 3 ขนาดคือ

ขนาดเล็ก มีความสูงเหนือพื้นดินประมาณ 20 เซนติเมตร

ขนาดกลาง มีความสูงเหนือพื้นดินประมาณ 50 เซนติเมตร

ขนาดใหญ่ มีความสูงเหนือพื้นดินประมาณ 70 เซนติเมตร

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ หลังจากเริ่มปฏิบัติการครั้งแรก และหลังจากการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเพื่อเลี้ยงในอาหารใหม่ 1, 2, 3 สัปดาห์ผ่านไป ภาพรวมที่ปรากฏสามารถสรุปได้ดังนี้คือ

2.1 การเปลี่ยนแปลงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ภายหลังการตัดแบ่งและเปลี่ยนอาหาร 1 สัปดาห์

จากตารางที่ 4 และ 5 จะเห็นว่าการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อภายในสัปดาห์แรกหลังจากเริ่มปฏิบัติการ หรือหลังจากการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ เพื่อเลี้ยงในอาหารใหม่ เมื่อพิจารณาจากหน่อทั้ง 3 ขนาด ที่นำมาปฏิบัติการปรากฏว่า ความสูงของหน่อมีลักษณะใกล้เคียงกันคือ

หน่อสูงขนาด 20 เซนติเมตร เมื่อนำมาปฏิบัติการเพาะเลี้ยงบนอาหารชิ้นส่วนได้เจริญพัฒนาขยายใหญ่ขึ้น หรือบางส่วนพัฒนาเป็นหน่อได้บ้าง มีขนาดสูงระหว่าง 0.5-3 เซนติเมตร ความสูงเฉลี่ยทั้ง 8 สัปดาห์ มีค่าระหว่าง 0.9-2.2 เซนติเมตร ความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมีค่าระหว่าง 1-2 เซนติเมตร ความกว้างเฉลี่ยทั้ง 8

สัปดาห์ มีค่าระหว่าง 1-1.8 เซนติเมตร เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อด้านความสูง มีการพัฒนาในเกณฑ์ปานกลางถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 2-5) โดยมีค่าเฉลี่ยในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 3.3) สำหรับความกว้างของชิ้นส่วนที่ขยายใหญ่ขึ้น ในระดับปานกลางถึงค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2-3) โดยมีค่าเฉลี่ยในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2.6)

หน่อสูงขนาด 50 เซนติเมตร การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ มีลักษณะใกล้เคียงกับหน่อสูงขนาด 20 เซนติเมตร กล่าวคือ ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อขยายขนาดขึ้นหรือมีการพัฒนาเป็นหน่อสูงระหว่าง 0.5-3 เซนติเมตร เช่นเดียวกัน (มีค่าเฉลี่ย 1.1-2.1 เซนติเมตร) ความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมีค่าระหว่าง 1-2 เซนติเมตร (มีค่าเฉลี่ย 1.1-1.9 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ สูงในระดับปานกลางถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 2-5) หรือมีค่าเฉลี่ยในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 3.1) สำหรับความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ มีการพัฒนาในระดับปานกลางถึงค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2-3) หรือมีค่าเฉลี่ยในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2.8)

หน่อสูงขนาด 70 เซนติเมตร การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมีความสูงระหว่าง 0.5-3 เซนติเมตร (มีค่าเฉลี่ย 1.3-2.2 เซนติเมตร) ความกว้างของชิ้นส่วนมีค่าระหว่าง 0.5-2 เซนติเมตร (มีค่าเฉลี่ย 0.9-1.8 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนัก ปรากฏว่า มีการเจริญพัฒนาในระดับปานกลางถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 2-5) หรือมีค่าเฉลี่ยในระดับมาก (ค่าน้ำหนัก 3.9) จึงนับว่ามีการเจริญพัฒนามากกว่าหน่อสูงขนาด 20 และ 50 เซนติเมตร 1ระดับ สำหรับความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ เจริญพัฒนาในระดับปานกลางถึงค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2-3) มีค่าเฉลี่ยในระดับปานกลางถึงค่อนข้างมากเช่นกัน (ค่าน้ำหนัก 2.5)

ตารางที่ 4 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์แรกหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากขนาดของหน่อ (หน่วย : ซม.)

สัปดาห์ที่	ลักษณะการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ					
	หน่อขนาด20(ซม.)		หน่อขนาด 50 (ซม.)		หน่อขนาด 70 (ซม.)	
	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง
1	1-1.5	1-2	1-2	1-2	2-2.5	1-2
5	1-2.5	1-2	1-1.5	1-2	2-2.5	1-1.5
9	1-3	1-1.5	1-1.5	1-2	1-2	.5-1.5
13	1-2	1-1.5	1-2	1-1.5	1-2.5	1-2
17	1-3	1-2	2-2.5	1-2	2-2.5	1-1.5
20	1-1.5	1-2	1-1.5	1-2	1-1.5	1-2
25	1-2.5	1-1.5	1-3	1-1.5	1-3	1-1.5
28	.5-1.5	1-2	.5-2.5	1.5-2	.5-3	1-2
เฉลี่ย	.9-2.2	1-1.8	1.1-2.1	1.1-1.9	1.3-2.2	.9-1.8
เฉลี่ยรวม	ความสูงทั้ง 3 ขนาด		1.1-2.2	ความกว้างทั้ง 3 ขนาด		1-1.8

ตารางที่ 5 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์แรกหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารเมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนัก ในด้านขนาดของหน่อ

สัปดาห์ที่	การเจริญพัฒนาเมื่อพิจารณาจากค่าน้ำหนัก					
	หน่อขนาด 20(ซม.)		หน่อขนาด 50(ซม.)		หน่อขนาด 70(ซม.)	
	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง
1	2	3	3	3	4	3
5	4	3	2	3	4	2
9	4	2	2	3	3	2
13	3	2	3	2	4	3
17	5	3	4	3	4	2
20	2	3	2	3	2	3
25	4	2	5	2	5	2
28	2	3	4	3	5	3
เฉลี่ย	3.3	2.6	3.1	2.8	3.9	2.5

เฉลี่ยรวม ความสูงทั้ง 3 ขนาด 3.42 ความกว้างทั้ง 3 ขนาด 2.60

2.2 การเปลี่ยนแปลงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ภายหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร 2 สัปดาห์ มีลักษณะการเจริญพัฒนาเมื่อพิจารณาจากความสูง และความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ แสดงในตารางที่ 6 และ 7

จากตารางที่ 6 และ 7 จะเห็นว่าการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อทั้ง 3 ขนาดความสูงของหน่อดังนี้คือ

หน่อสูงขนาด 20 เซนติเมตร เมื่อพิจารณาภาพรวมทั้ง 8 สัปดาห์ปรากฏว่า ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นมากกว่าสัปดาห์แรก ภายหลังการตัดแบ่งเนื้อเยื่อเล็กน้อย ความสูงของชิ้นส่วนหรือหน่อมีค่าระหว่าง 0.7-4 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.2-2.9 เซนติเมตร) ส่วนความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ มีค่าใกล้เคียงกับสัปดาห์แรก คือระหว่าง 1-2 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1-1.9 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ มีความสูงเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมากถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 3-5) โดยมีค่าเฉลี่ยในระดับมาก (ค่าน้ำหนัก 3.8) ส่วนความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ มีการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2-3) มีค่าเฉลี่ยในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2.6)

หน่อสูงขนาด 50 เซนติเมตร การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ มีค่าระหว่าง 1-5 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.4-3.4 เซนติเมตร) ซึ่งนับว่ามีความสูงกว่าหน่อสูงขนาด 20 เซนติเมตรเล็กน้อย ส่วนความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ มีค่าคล้ายคลึงกับหน่อสูงขนาด 20 เซนติเมตร โดยมีความกว้าง 1-2 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.1-1.9 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า ชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อมีความสูงในระดับปานกลางถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 2-5) มีค่าเฉลี่ยในระดับมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 4.4) ส่วนความกว้างมีค่าคล้ายคลึงกับหน่อสูงขนาด 20 เซนติเมตร โดยมีการเจริญพัฒนาในระดับปานกลางถึงค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2-3) และมีค่าเฉลี่ยในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2.9)

ตารางที่ 6 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 2 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากขนาด ของหน่อ (หน่วย : ซม.)

สัปดาห์ที่	ลักษณะการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ					
	หน่อขนาด 20 (ซม.)		หน่อขนาด 50 (ซม.)		หน่อขนาด 70 (ซม.)	
	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง
3	1.5-2	1-2	1.5-2	1-2	1.5-2	1-2
6	1-2	1-1.5	2.5-3	1.5-2	2.5-3	1.5-2
10	.7-2	1-2	1-1.	1-2	1-1.5	1-2
14	1-2	1-1.5	1-4	1-2	.5-3.5	1-2
18	1-2.5	1-2	1.5-5	1-2	1.5-5	1-2
21	1-2.5	1-2	1-4	1-1.5	1-3.5	1-1.5
25	1.5-4	1-2	1-3	1-2	1.5-5	1-2
30	1.5-3	1-1.5	1.5-5	1-2	1.5-3	1-1.5
เฉลี่ย	1.2-2.9	1-1.9	1.4-3.4	1.1-1.9	1.4-3.3	1.1-1.9
เฉลี่ยรวม	ความสูงทั้ง 3 ขนาด 1.3-3.2		ความกว้างทั้ง 3 ขนาด 1-1.9			

ตารางที่ 7 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 2 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารเมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนัก ในด้านขนาดของหน่อ

สัปดาห์ที่	การเจริญพัฒนาเมื่อพิจารณาจากค่าน้ำหนัก					
	หน่อขนาด 20(ซม.)		หน่อขนาด 50(ซม.)		หน่อขนาด 70(ซม.)	
	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง
3	3	3	3	3	3	2
6	3	2	5	3	5	3
10	3	3	2	3	2	2
14	3	2	5	3	5	2
18	4	3	5	3	5	2
21	4	3	5	2	5	2
25	5	3	5	3	5	2
30	5	2	5	3	5	2
เฉลี่ย	3.8	2.6	4.4	2.9	4.4	2.1

เฉลี่ยรวม ความสูงทั้ง 3 ขนาด 4.17 ความกว้างทั้ง 3 ขนาด 2.50

หน่อสูงขนาด 70 เซนติเมตร มีการเจริญพัฒนาคล้ายคลึงกับหน่อสูงขนาด 20 เซนติเมตรมาก กล่าวคือ มีความสูงของหน่อระหว่าง 0.5-5 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.4-3.3 เซนติเมตร) นอกจากนั้นความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ก็เจริญพัฒนาคล้ายกัน โดยมีค่าระหว่าง 1-2 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.1-1.9 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า มีความสูงเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 2-5) มีค่าเฉลี่ยในระดับมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 4.4) ส่วนความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ มีค่าระดับปานกลางถึงค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2-3) มีค่าเฉลี่ยในระดับปานกลาง (ค่าน้ำหนัก 2.1)

2.3 การเปลี่ยนแปลงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ภายหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร 3 สัปดาห์ มีลักษณะการเจริญพัฒนา เมื่อพิจารณาจากความสูงและความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ แสดงในตารางที่ 8 และ 9

จากตารางที่ 8 และ 9 เมื่อพิจารณาลักษณะการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ปรากฏว่า ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อมีลักษณะดังนี้คือ

หน่อสูงขนาด 20 เซนติเมตร ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมีการเจริญพัฒนาสูงขึ้นมากกว่าสัปดาห์แรกและสัปดาห์ที่ 2 ภายหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารใหม่ กล่าวคือมีความสูงระหว่าง 1-6 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.5-4.2 เซนติเมตร) ส่วนความกว้างคล้ายคลึงกับสัปดาห์ที่ 2 ภายหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารใหม่ โดยมีค่าระหว่าง 1-2.5 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1-1.9 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อมีความสูงเพิ่มขึ้น ในระดับมากที่สุดเท่ากันทั้ง 8 สัปดาห์ (ค่าน้ำหนัก 5) ส่วนความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ พัฒนาในระดับปานกลางถึงมาก (ค่าน้ำหนัก 2-4) มีค่าเฉลี่ยในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2.8)

หน่อสูงขนาด 50 เซนติเมตร ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ มีการเจริญพัฒนาสูงขึ้นคล้ายคลึงกับหน่อสูงขนาด 20 เซนติเมตร โดยมีความสูงระหว่าง 1-3 (มี

ตารางที่ 8 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 3 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากขนาดของหน่อ (หน่วย :ซม.)

สัปดาห์ที่	ลักษณะการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ					
	หน่อขนาด 20 (ซม.)		หน่อขนาด 50 (ซม.)		หน่อขนาด 70 (ซม.)	
	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง
4	2-3	1-1.5	2-3	1-1.5	2-2.5	1-2
7	2-4	1-2	2-3.5	1-2	2-3	1-1.5
11	1.5-3.5	1-1.5	2-4	1-2.5	2-4	1-2
15	2-5	1-2	1-7.5	1-2	1-6	1-2
19	1.5-3	1-2	1-3	1-2	2-2.5	1-1.5
22	1-6	1-2.5	1-4.5	1-2	1-3.5	1-2
26	1-5	1-2	1-3	1-1.5	1-4	1-1.5
30	1-4	1-1.5	1-4	1-2	1-5	1-2
เฉลี่ย	1.5-4.2	1-1.9	1.4-4.1	1-1.9	1.5-3.8	1-1.8
เฉลี่ยรวม	ความสูงทั้ง 3 ขนาด	1.4-4.0	ความกว้างทั้ง 3 ขนาด	1-1.9		

ตารางที่ 9 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 3 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนัก

สัปดาห์ที่	การเจริญพัฒนา เมื่อพิจารณาจากค่าน้ำหนัก					
	หน่อขนาด 20(ซม.)		หน่อขนาด 50(ซม.)		หน่อขนาด 70(ซม.)	
	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง
4	5	2	5	2	4	3
7	5	3	5	3	5	2
11	5	2	5	4	5	3
15	5	3	5	3	5	3
19	5	3	5	3	4	2
22	5	4	5	3	5	3
26	5	3	5	2	5	2
30	5	2	5	3	5	3
เฉลี่ย	5.0	2.8	5.0	2.9	4.8	2.6
เฉลี่ยรวม	ความสูงทั้ง 3 ขนาด 4.90		ความกว้างทั้ง 3 ขนาด 2.80			

ค่าเฉลี่ย 1.4-4.1 เซนติเมตร) ความกว้างของชิ้นส่วนมีค่าระหว่าง 1-1.5 เซนติ-เมตร (มีค่าเฉลี่ย 1-1.9 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ มีความสูงเพิ่มขึ้น โดยมีค่าเฉลี่ยทั้ง 8 สัปดาห์ในระดับมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 5) ส่วนความกว้างของชิ้นส่วน เจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงค่อน ข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2-4) มีค่าเฉลี่ยในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2.9)

หน่อสูงขนาด 70 เซนติเมตร ชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อหรือหน่อ เจริญพัฒนาคล้ายคลึงกับหน่อสูงขนาด 20 เซนติเมตร กล่าวคือ ชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อหรือหน่อ เจริญพัฒนาสูงเพิ่มขึ้นระหว่าง 1-6 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.5-3.8 เซนติเมตร) ความกว้างของชิ้นส่วนก็คล้ายคลึงกันคือ มีความกว้างระหว่าง 1-2 เซนติเมตร (ค่า เฉลี่ย 1-1.8 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า ชิ้นส่วนของ เนื้อเยื่อหรือหน่อ มีความสูงในระดับมากถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 4-5) มีค่าเฉลี่ยใน ระดับมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 4.8) ส่วนความกว้าง เจริญพัฒนาระดับปานกลางถึงค่อน ข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2-3) มีค่าเฉลี่ยในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2.6)

3. วิธีการตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหน่อกล้วยสำหรับเลี้ยงบนอาหาร

ในการตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหน่อกล้วย เพื่อใช้ในการขยายพันธุ์ครั้งนี้ ได้จำแนก การตัดหน่อกล้วยออกเป็น 3 วิธีการคือ

วิธีการที่ 1 ตัดชิ้นส่วนหน่อกล้วยให้เหลือเฉพาะปลายยอด โดยลอกกาบที่หุ้ม อยู่ออกให้หมด คงเหลือเฉพาะปลายยอดของหน่อกล้วย ที่เป็นจุดเจริญจริงๆ

วิธีการที่ 2 ตัดชิ้นส่วนหน่อกล้วยให้เหลือตาข้าง กระทำในลักษณะคล้ายกับ วิธีการแรก แต่ไม่ลอกกาบที่หุ้มปลายยอดอยู่ ทำให้เหลือตาข้างภายในกาบ ซึ่งสามารถ เจริญเติบโตเป็นหน่อต่อไปได้

วิธีการที่ 3 ตัดชิ้นส่วนหน่อกล้วยให้เหลือตาข้าง คล้ายกับวิธีการที่ 2 แต่

ทำการตัดแบ่งชิ้นส่วนของหน่อกล้วยออกเป็น 4 ส่วน โดยพยายามตัดแบ่งให้มีตาข้างอยู่ทั้ง 4 ชิ้น

เมื่อนำหน่อกล้วยทั้ง 3 ขนาดความสูง (20, 50 และ 70 เซนติเมตร) มาทำการตัดแบ่งตามวิธีการที่กล่าวมาทั้ง 3 วิธีการ เลี้ยงบนอาหาร 3 สูตร ลักษณะการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อแต่ละวิธีการ เมื่อนำมาเปรียบเทียบกัน สามารถสรุปผลแต่ละสัปดาห์ ภายหลังเริ่มปฏิบัติการ และหลังจากการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารใหม่ 1, 2 และ 3 สัปดาห์ มีลักษณะดังนี้คือ

3.1 การเปลี่ยนแปลงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ เมื่อพิจารณาจากวิธีการตัดชิ้นส่วน ภายหลังการตัดแบ่งและเปลี่ยนอาหาร 1 สัปดาห์ ลักษณะการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ แสดงในตารางที่ 10 และ 11 สรุปผลได้ดังนี้คือ

วิธีการที่ 1 (TP) การตัดชิ้นส่วนตามวิธีการนี้ ต้องลอกกาบที่หุ้มปลายยอดออกให้หมด คงเหลือเฉพาะปลายยอดซึ่งเป็นจุดเจริญจริงๆ ดังนั้น การเจริญพัฒนาของหน่อกล้วย น่าจะมาจากปลายยอดเพียงอย่างเดียวในระยะแรก แต่เมื่อหน่อมีการเจริญพัฒนามีกาบหุ้ม ตาข้างซึ่งแทรกอยู่ระหว่างกาบนั้น จึงจะเจริญพัฒนาเป็นหน่อต่อไป ผลการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนในสัปดาห์แรก ภายหลังเริ่มปฏิบัติการ หรือหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารทั้ง 8 สัปดาห์ เมื่อพิจารณาจากความสูงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ปรากฏว่ามีค่าระหว่าง 0.5-2.5 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 0.8-1.6 เซนติเมตร) ความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมีค่าระหว่าง 0.7-2 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 0.9-1.3 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ มีการเจริญพัฒนาสูงเพิ่มขึ้นในระดับเล็กน้อยถึงมาก (ค่าน้ำหนัก 1-4) โดยมีค่าเฉลี่ยสูงเพิ่มขึ้นในระดับปานกลาง (ค่าน้ำหนัก 2.3) ส่วนความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ขยายขนาดเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2-3) มีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับปานกลาง (ค่าน้ำหนัก 2.1)

ตารางที่ 10 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์แรกหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากวิธีการตัดชิ้นส่วน (หน่วย:ซม.)

สัปดาห์ที่	วิธีการตัดชิ้นส่วน					
	วิธีการที่ 1(TP)		วิธีการที่ 2(TPp)		วิธีการที่ 3(TX)	
	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง
1	1-1.5	1-1.5	1-2	1-2	1.5-2	1-1.5
5	1-1.3	1-1.2	1-1.5	1-2.2	1.3-2	1-1.7
9	.5-1.5	1-2	.5-1.5	1.5-2.5	.5-1	1-1.5
13	.5-1	1-1.	1-2	1-2.1	.6-1.2	1-1.3
17	.6-1.1	1-1.2	1-1.8	1-1.9	1.5-2	1-1.2
20	1-1.5	.7-1.2	1-1.7	1-2	1.4-2	1-1.4
25	1-2.5	.7-1.1	1-2	.5-2.5	1.2-2	1-1.5
28	.5-2.5	.8-1.3	.5-3	.7-1.9	.5-2	1-1.6
เฉลี่ย	.8-1.6	.9-1.3	.9-1.9	1-1.9	1.1-1.8	1-1.5
เฉลี่ยรวม	ความสูงทั้ง 3 วิธีการ .9-1.8		ความกว้างทั้ง 3 วิธีการ .8-1.6			

ตารางที่ 11 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์แรกหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักในวิธีการตัดชิ้นส่วน

สัปดาห์ที่	วิธีการตัดชิ้นส่วน					
	วิธีการที่ 1(TP)		วิธีการที่ 2(TPp)		วิธีการที่ 3(TX)	
	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง
1	2	2	3	3	3	2
5	2	2	2	4	3	3
9	2	3	2	4	1	2
13	1	2	3	4	2	2
17	1	2	3	3	3	2
20	2	2	3	3	3	2
25	4	2	3	4	3	2
28	4	2	5	3	3	3
เฉลี่ย	2.3	2.1	3.0	3.5	2.6	2.3
เฉลี่ยรวม	ความสูงทั้ง 3 วิธีการ 2.6		ความกว้างทั้ง 3 วิธีการ 2.6			

วิธีการที่ 2 (TPp) การตัดชิ้นส่วนตามวิธีการนี้ ลอกกาบของหน่อกล้วยให้เหลือส่วนซึ่งหุ้มปลายยอด แล้วตัดชิ้นส่วนให้มีขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยพยายามให้จุดเจริญอยู่จุดศูนย์กลาง ดังนั้นการเจริญพัฒนาของหน่อกล้วย น่าจะเจริญได้ทั้งจากจุดเจริญปลายยอด และจากตาข้างซึ่งแทรกอยู่ระหว่างกาบด้วย ผลการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อในสัปดาห์แรก หลังจากเริ่มปฏิบัติการ หรือหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารทั้ง 8 สัปดาห์ เมื่อพิจารณาจากความสูงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ปรากฏว่ามีค่าระหว่าง 0.5-3 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 0.9-1.9 เซนติเมตร) ความกว้างของชิ้นส่วนมีค่าระหว่าง 0.5-2.5 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1-1.9 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า ชิ้นส่วนหรือหน่อมีการเจริญพัฒนาสูงเพิ่มขึ้น ในระดับปานกลางถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 2-5) โดยมีค่าเฉลี่ยสูงเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 3) และความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ขยายขนาดเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมากถึงมาก (ค่าน้ำหนัก 3-4) มีค่าเฉลี่ยในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 3.5)

วิธีการที่ 3 (TX) การตัดชิ้นส่วนตามวิธีการนี้ ปฏิบัติการเหมือนกับวิธีการที่ 2 แต่หลังจากตัดชิ้นส่วนของหน่อหลังจากลอกกาบให้มีขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตรแล้ว ทำการผ่าชิ้นส่วนนั้นออกเป็น 4 ชิ้น แต่ละชิ้นให้มีจุดเจริญอยู่ด้วย ผลการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนในสัปดาห์แรก หลังจากเริ่มปฏิบัติการ หรือหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารทั้ง 8 สัปดาห์ เมื่อพิจารณาจากความสูงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ปรากฏว่ามีค่าระหว่าง 0.5-2 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.1-1.8 เซนติเมตร) ความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมีค่าระหว่าง 1-1.7 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1-1.5 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า มีค่าสูงเพิ่มขึ้น ในระดับเล็กน้อยถึงค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 1-3) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2.6) ความกว้างของชิ้นส่วนขยายขนาดเพิ่มขึ้น ในระดับปานกลางถึงค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2-3) มีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับปานกลาง (ค่าน้ำหนัก 2.3)

3.2 การเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ เมื่อพิจารณาจากวิธีการตัดชิ้นส่วนภายหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารสัปดาห์ที่ 2 ลักษณะการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ แสดงในตารางที่ 12 และ 13 แต่ละวิธีการสรุปผลได้ดังนี้คือ

วิธีการที่ 1 (TP) การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อปรากฏว่า ความสูงของชิ้นส่วนหรือหน่อมีค่าระหว่าง 0.5-7 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.1-2.7 เซนติเมตร) ความกว้างของชิ้นส่วนมีค่าระหว่าง 1-2.5 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.2-1.9 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า ในด้านความสูงมีการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นในระดับเล็กน้อยถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 1-5) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับมาก (ค่าน้ำหนัก 3.9) สำหรับความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อมีการขยายขนาดเพิ่มขึ้น ในระดับปานกลางถึงค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2-3) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2.9)

วิธีการที่ 2 (TPp) การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อปรากฏว่า ความสูงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ มีค่าเพิ่มขึ้นระหว่าง 0.5-2.5 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.1-1.9) ความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ มีค่าระหว่าง 0.5-2 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.1-1.9 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า มีความสูงเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงมาก (ค่าน้ำหนัก 2-4) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 3) สำหรับความกว้างของชิ้นส่วนมีการขยายขนาดเพิ่มขึ้น ในระดับปานกลางถึงค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2-3) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับปานกลาง (ค่าน้ำหนัก 2.1)

วิธีการที่ 3 (TX) การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อปรากฏว่ามีค่าเพิ่มขึ้นระหว่าง 1-3 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.5-2.5 เซนติเมตร) ความกว้างของชิ้นส่วน ขยายขนาดเพิ่มขึ้นระหว่าง 1-3 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.4-2

ตารางที่ 12 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 2 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากวิธีการตัดชิ้นส่วน (หน่วย : ซม.)

สัปดาห์ที่	วิธีการตัดชิ้นส่วน					
	วิธีการที่ 1(TP)		วิธีการที่ 2(TPp)		วิธีการที่ 3(TX)	
	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง
3	1-2	1.5-2	1.5-2	.5-2	2-2.5	2-2.2
6	.5-1	1-1.5	.5-2	1-1.5	2-3	2.5-3
10	1-1.5	1-1.3	.5-1	1-1.5	1-2	1-1.5
14	1.5-4	1-2.5	1.5-2	1.5-1.5	1-2.5	1-2
18	1-2.7	1-1.8	1.5-2.5	1-1.5	1.5-2.5	1.5-2.5
21	1-5	1.5-2	1-2	1-1.5	1-2.5	1-1.5
25	1.5-7	1-2	1-2	1.5-2	1.5-2.5	1-2
30	1.5-3	1.5-2	1.5-2	1-2	2-2.5	1.5-2
เฉลี่ย	1.1-2.7	1.2-1.9	1.1-1.9	1.1-1.9	1.5-2.5	1.4-2
เฉลี่ยรวม	ความสูงทั้ง 3 วิธีการ	1.2-2.4	ความกว้างทั้ง 3 วิธีการ	1.2-1.9		

ตารางที่ 13 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 2 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักในวิธีการตัดชิ้นส่วน

สัปดาห์ที่	วิธีการตัดชิ้นส่วน					
	วิธีการที่ 1(TP)		วิธีการที่ 2(TPp)		วิธีการที่ 3(TX)	
	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง
3	3	3	3	3	4	4
6	1	2	3	2	5	4
10	2	2	2	2	3	2
14	5	4	3	2	4	3
18	5	3	4	2	4	4
21	5	3	3	2	4	2
25	5	3	3	2	4	3
30	5	3	3	2	4	3
เฉลี่ย	3.9	2.9	3.0	2.1	4.0	3.1

เฉลี่ยรวม ความสูงทั้ง 3 วิธีการ 3.6 ความกว้างทั้ง 3 วิธีการ 2.6

เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า ความสูงของชิ้นส่วนหรือหน่อมีค่าเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมากถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 3-5) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับมาก (ค่าน้ำหนัก 4) สำหรับความกว้างขยายขนาดเพิ่มขึ้น ในระดับปานกลางถึงมาก (ค่าน้ำหนัก 2-4) มีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 3.1)

3.3 การเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ เมื่อพิจารณาจากวิธีการตัดชิ้นส่วนภายหลังการตัดแบ่งและเปลี่ยนอาหารสัปดาห์ที่ 3 ลักษณะการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ แสดงในตารางที่ 14 และ 15 ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสัปดาห์สุดท้ายของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แต่ละวิธีการตัดแบ่งสามารถสรุปผลได้ดังนี้คือ

วิธีการที่ 1 (TP) การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อปรากฏว่า มีความสูงเพิ่มขึ้นระหว่าง 1-8 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.3-3.8 เซนติเมตร) ความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ มีค่าระหว่าง 1-3 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.3-2.4 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า หน่อมีความสูงเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 2-5) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 4.6) ส่วนความกว้างของชิ้นส่วนหรือหน่อ มีค่าเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงมากที่สุดเช่นกัน (ค่าน้ำหนัก 2-5) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับมาก (ค่าน้ำหนัก 3.8)

วิธีการที่ 2 (TPp) การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อปรากฏว่า มีความสูงเพิ่มขึ้นระหว่าง 0.5-7.5 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1-3.1 เซนติเมตร) ความกว้างของชิ้นส่วน มีค่าระหว่าง 0.5-3.5 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.1-2.1 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า หน่อมีความสูงเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 2-5) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับมาก (ค่าน้ำหนัก

ตารางที่ 14 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 3 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากวิธีการตัดชิ้นส่วน (หน่วย : ซม.)

สัปดาห์ที่	วิธีการตัดชิ้นส่วน					
	วิธีการที่ 1(TP)		วิธีการที่ 2(TPp)		วิธีการที่ 3(TX)	
	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง
4	1-1.5	1-2	1.5-2	1-2	1-2	.5-1.5
7	1-5	1-3	1-4	2-3.5	1.5-5	2-3
11	1.5-3.5	2-3	1-3	2-3	2.5-3	1.5-2.5
15	1.5-8	.5-1.3	1-7.5	.5-1.5	1-6	.5-6
19	1.5-3	2-3	1.5-3	1-2	1.5-6	1-3
22	1-4.5	1-2.5	.5-2	.5-1	1-4	1-2
26	1.5-3	1.5-2	1-2	1-2	1-3	1-1.5
31	1.5-2	1-2	.5-1.5	.5-2	1.5-3	1-3
เฉลี่ย	1.3-3.8	1.3-2.4	1-3.1	1.1-2.1	1.4-4	1.1-2.8
เฉลี่ยรวม	ความสูงทั้ง 3 วิธีการ 1.2-3.6		ความกว้างทั้ง 3 วิธีการ 1.2-2.4			

ตารางที่ 15 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 3 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักในวิธีการตัดชิ้นส่วน

สัปดาห์ที่	วิธีการตัดชิ้นส่วน					
	วิธีการที่ 1(TP)		วิธีการที่ 2(TPp)		วิธีการที่ 3(TX)	
	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง	สูง	กว้าง
4	2	3	3	3	3	2
7	5	5	5	5	5	5
11	5	5	5	5	5	4
15	5	2	5	2	5	5
19	5	5	5	3	5	5
22	5	4	3	1	5	3
26	5	3	3	3	5	2
31	5	3	2	3	5	5
เฉลี่ย	4.6	3.8	3.9	3.1	4.8	3.9

เฉลี่ยรวม ความสูงทั้ง 3 วิธีการ 4.4 ความกว้างทั้ง 3 วิธีการ 3.6

3.9) ส่วนความกว้างของชิ้นส่วน ขยายขนาดเพิ่มขึ้น ตั้งแต่ระดับเล็กน้อยถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 1-5) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 3.1)

วิธีการที่ 3 (TX) การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อวิธีการนี้ปรากฏว่า มีความสูงเพิ่มขึ้นระหว่าง 1-6 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.4-4 เซนติเมตร) ความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ขยายขนาดเพิ่มขึ้น 0.5-3 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.1-2.8 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า มีความสูงเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมากถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 3-5) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 4.8) ส่วนความกว้างขยายขนาดเพิ่มขึ้น ในระดับปานกลางถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 2-5) มีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับมาก (ค่าน้ำหนัก 3.9)

4. สูตรอาหารที่นำมาใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย

การวิจัยครั้งนี้ ได้พิจารณานำสูตรอาหารสำหรับใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย ซึ่งนับว่ามีความเหมาะสมคือ สูตรอาหาร MS มาทำการดัดแปลงใหม่รวม 3 สูตร แต่ละสูตรประกอบด้วยสารอาหารและฮอร์โมน ในอัตราส่วนดังนี้คือ

สูตร I MS + น้ำมะพร้าว 15 % + BA 5 มก./ลิตร

สูตร II MS + Kn 2.5 มก./ลิตร + BA 2.5 มก./ลิตร

สูตร III MS + Kn 2.5 มก./ลิตร + IBA 2.5 มก./ลิตร

ผลที่ได้จากการวิจัย เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่อง ในช่วงระยะเวลาประมาณ 31 สัปดาห์ เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อที่เจริญพัฒนาเพิ่มขึ้น หลังจากเริ่มปฏิบัติการ หรือหลังจากการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารใหม่ปรากฏว่า ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่เลี้ยงบนอาหารแต่ละสูตร ซึ่งมีอัตราและส่วนประกอบแตกต่างกันรวม 3 สูตรนั้น สรุปได้ดังนี้

4.1 การเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ภายหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร 1 สัปดาห์ แสดงในตารางที่ 16 และ 17

จากตารางที่ 16 และ 17 เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ในสัปดาห์แรกหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารนั้น แต่ละวิธีการตัดแบ่ง เมื่อพิจารณาจากสูตรอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ปรากฏผลดังนี้คือ

วิธีการที่ 1 (TP) เมื่อนำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่องเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ I ปรากฏว่า ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ มีการเปลี่ยนแปลงบ้างเล็กน้อย กล่าวคือ มีความสูงเพิ่มขึ้นระหว่าง 0.5-2 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 0.8-1.6 เซนติเมตร) สูตรที่ II มีการเปลี่ยนแปลงคล้ายคลึงกัน แต่บางสัปดาห์มีค่าเพิ่มขึ้นมากกว่าเล็กน้อย คือสูง 0.5-3 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 0.9-1.6 เซนติเมตร) สำหรับสูตรที่ III มีการเปลี่ยนแปลงไปในทำนองเดียวกันคือสูง 1-2 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ยถึงสัปดาห์ที่ 9 คือ 1-1.7 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อซึ่งเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ I มีการเปลี่ยนแปลงสูงขึ้นในระดับปานกลางถึงค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2-3) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับปานกลาง (ค่าน้ำหนัก 2.3) ส่วนอาหารสูตรที่ II มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2-3) มีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2.6) สำหรับการเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ III พิจารณาเพียง 3 ระยะ การเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมีค่าเพิ่มขึ้นในระดับเล็กน้อยถึงปานกลาง (ค่าน้ำหนัก 1-2) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับปานกลาง (ค่าน้ำหนัก 1.7)

วิธีการที่ 2 (TPp) การเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ มีลักษณะคล้ายคลึงกับการเพาะเลี้ยงในวิธีการที่ 1 กล่าวคือ เมื่อเลี้ยงบนสูตรอาหารที่ I ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเปลี่ยนแปลงสูงเพิ่มขึ้นเพียง 0.5-3 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 0.8-1.7 เซนติเมตร) ส่วนการเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ II มีลักษณะคล้ายคลึงกับการเลี้ยงบนอาหาร

ตารางที่ 16 ความสูงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์แรกหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารเมื่อพิจารณาจากสูตรอาหาร (หน่วย : ซม.)

สัปดาห์ที่	วิธีการที่ 1 (TP)			วิธีการที่ 2 (TPp)			วิธีการที่ 3 (TX)		
	สูตรอาหาร								
	I	II	III	I	II	III	I	II	II
1	1-1.5	1-3	1-1.5	1-2	1-3	1-2	1.5-2	1.5-2	1-1.5
5	1-2	1-2	1-2	1-3	1-3	1-3	1-3	1-3	1-3
9	.5-1.5	1-2	1-1.5	.5-1.5	1-2	.5-1	.5-1	1-1.5	.5-1
13	1-2	1-1.5		1-2	1-1.5		1-2.5	1-2	
17	1-2	1-1.5		1-1.5	1-1.5		1-2	1-1.5	
20	1-1.5	1-1.5		1-1.5	.5-1		1-1.5	1-1.5	
25	.5-1	.5-1		.5-1	.5-1		1-2.5	1-2.5	
28	.5-1.5	.5-1.5		.5-1	.5-1.5		1-1.5	1-1.5	
เฉลี่ย	.8-1.6	.9-1.6	1-1.7	.8-1.7	.8-1.8	.8-2	1-2	1.1-1.9	.8-1.7

เฉลี่ยรวม 3วิธีการ สูตร I .9-1.8 สูตร II .9-1.8 สูตร III .9-1.8

ตารางที่ 17 ค่าเฉลี่ยการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์แรกหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากสูตรอาหาร โดยวิธีการให้ค่าน้ำหนัก

สัปดาห์ที่	วิธีการที่ 1 (TP)			วิธีการที่ 2 (TPp)			วิธีการที่ 3 (TX)		
	สูตรอาหาร								
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
1	2	3	2	3	4	3	4	4	3
5	2	3	2	3	4	4	3	3	3
9	2	3	1	2	4	1	3	4	2
13	3	3		3	3		3	2	
17	3	3		4	4		5	5	
20	2	2		2	2		2	2	
25	2	2		2	2		4	4	
28	2	2		2	2		2	2	
เฉลี่ย	2.3	2.6	1.7	2.6	3.1	2.7	3.3	3.3	2.7

เฉลี่ยรวมทั้ง 3 วิธีการ สูตร I 2.7 สูตร II 3.0 สูตร III 2.4

สูตร I โดยมีค่าความสูงเพิ่มขึ้นระหว่าง 0.5-3 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 0.8-1.8 เซนติเมตร) สำหรับการเลี้ยงบนอาหารสูตร III ก็มีลักษณะใกล้เคียงกันคือ มีความสูงเพิ่มขึ้นระหว่าง 0.5-3 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 0.8-2 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อซึ่งเลี้ยงบนอาหารสูตร I มีการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงมาก (ค่าน้ำหนัก 2-4) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2.6) การเลี้ยงบนอาหารสูตร II เจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงมาก (ค่าน้ำหนัก 2-4) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 3.1) สำหรับการเลี้ยงบนอาหารสูตร III การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมีทั้งระดับเล็กน้อยถึงมาก (ค่าน้ำหนัก 1-4) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2.7)

วิธีการที่ 3 (TX) การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ เมื่อพิจารณาจากค่าเฉลี่ยค่อนข้างใกล้เคียง หรือเจริญกว่าวิธีการที่ 1 และ 2 บ้างเล็กน้อย กล่าวคือ การเลี้ยงบนอาหารสูตร I เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงด้านความสูงปรากฏว่า มีค่าระหว่าง 0.5-2.5 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1-2 เซนติเมตร) การเลี้ยงบนอาหารสูตร II ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นระหว่าง 1-3 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.1-1.9 เซนติเมตร) ส่วนการเลี้ยงบนอาหารสูตร III มีค่าความสูงเพิ่มขึ้นระหว่าง 0.5-3 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 0.8-1.7 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร I มีการเปลี่ยนแปลงสูงเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 2-5) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 3.3) ส่วนการเลี้ยงบนอาหารสูตร II การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ คล้ายคลึงกับการเลี้ยงบนอาหารสูตร I โดยมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 2-5) มีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 3.3) ส่วนการเลี้ยงบนอาหารสูตร III การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ

น้อยกว่าการเลี้ยงบนอาหารสูตร I และ II เล็กน้อย กล่าวคือ มีการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2-3) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2.7)

4.2 การเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ภายหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร 2 สัปดาห์ การเจริญพัฒนาแสดงในตารางที่ 18 และ 19

จากตารางที่ 18 และ 19 เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อในสัปดาห์ที่ 2 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารนั้น แต่ละวิธีการตัดแบ่ง การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อและหน่อ ในแต่ละสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยง ปรากฏผลดังนี้คือ

วิธีการที่ 1 (TP) การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในด้านความสูงปรากฏว่า การเลี้ยงบนอาหารสูตร I มีการเปลี่ยนแปลงตั้งแต่ 0.5-7 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.1-3.2 เซนติเมตร) การเลี้ยงบนอาหารสูตร II ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นระหว่าง 1-6 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1-2.5 เซนติเมตร) ส่วนการเลี้ยงบนอาหารสูตร III มีการเปลี่ยนแปลงระหว่าง 0.5-1.5 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 0.8-1.3 เซนติเมตร) นับว่ามีการเจริญพัฒนาน้อยกว่าการเลี้ยงบนอาหารสูตร I และ II ทั้งข้อมูลในแต่ละสัปดาห์และข้อมูลซึ่งเป็นค่าเฉลี่ย เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า ในการเลี้ยงบนอาหารสูตร I การเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 2-5) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 3.4) การเลี้ยงบนอาหารสูตร II ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้น คล้ายคลึงกับการเลี้ยงบนอาหารสูตร I กล่าวคือ มีความสูงเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงมาก (ค่าน้ำหนัก 2-4) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 3.3) สำหรับการเลี้ยงบนอาหารสูตร III เจริญพัฒนาน้อยกว่าการเลี้ยงบนอาหารสูตร I และ II โดยมีการเจริญพัฒนาในระดับเล็กน้อยถึงค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 1-3) และมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับปานกลาง (ค่าน้ำหนัก 2)

ตารางที่ 18 ความสูงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 2 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารเมื่อพิจารณาจากสูตรอาหาร (หน่วย : ซม.)

สัปดาห์ที่	วิธีการที่ 1 (TP)			วิธีการที่ 2 (TPp)			วิธีการที่ 3 (TX)		
	สูตรอาหาร								
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
3	1.5-2	1.5-2.5	1-1.5	1.5-2	1.5-2.5	1-1.5	2-2.5	2-3	1-1.5
6	.5-1	1-2	1-1.5	.5-2	.5-2	.5-1	1-4	1-3	.5-1
10	.5-1	1-1.5.5-1		.5-1	1-2	.5-1	.5-2	1-1.5	.5-1
14	1.5-4	1-1.5		1-3	.7-3.5		.5-3.5	1-4	
18	1-2.7	1-2		1-2.5	1-2		1.5-5	1.5-2.5	
21	1-5	1-2.5		1-2.5	1-3		1-2.5	1-4	
25	1.5-7	1-6		1-3	1-5		1-2	1-5	
30	1.5-3	1-2		1-3	1-4.5		1-2.5	1-6	
เฉลี่ย	1.1-3.2	1-2.5	.8-1.3	.9-2.4	1-3.1	.7-1.2	1.1-3	1.2-3.6	.7-1.2

เฉลี่ยรวม 3 วิธีการ สูตร I 1-2.9 สูตร II 1.0-3.1 สูตร III .7-1.2

ตารางที่ 19 ค่าเฉลี่ยการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 2 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากสูตรอาหาร โดยวิธีการให้ค่าน้ำหนัก

สัปดาห์ที่	วิธีการที่ 1 (TP)			วิธีการที่ 2 (TPp)			วิธีการที่ 3 (TX)		
	สูตรอาหาร								
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
3	3	4	3	4	5	4	4	5	3
6	2	3	2	3	3	0	3	2	0
10	3	4	1	3	2	2	4	3	1
14	4	3		5	4		3	2	
18	5	4		5	4		5	5	
21	4	3		3	2		4	4	
25	2	2		2	2		4	4	
30	4	3		4	3		4	3	
เฉลี่ย	3.4	3.3	2	3.6	2.8	2	3.9	3.5	1.3

เฉลี่ยรวมทั้ง 3 วิธีการ สูตร I 3.6 สูตร II 3.2 สูตร III 1.8

วิธีการที่ 2 (TPp) การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ตามวิธีการนี้ปรากฏว่า เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร I มีการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นระหว่าง 0.5-3 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 0.9-2.4 เซนติเมตร) การเลี้ยงบนอาหารสูตร II มีการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นระหว่าง 0.5-5 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1-3.1 เซนติเมตร) ส่วนการเลี้ยงบนอาหารสูตร III การเจริญพัฒนาค่อนข้างน้อยกว่าการเลี้ยงบนอาหารสูตร I และสูตร II โดยมีการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นระหว่าง .5-1.5 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย .7-1.2 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า การเลี้ยงบนอาหารสูตร I มีการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 2-5) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับมาก (ค่าน้ำหนัก 3.6) ส่วนการเลี้ยงบนอาหารสูตร II การเจริญในแต่ละสัปดาห์เพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 2-5) แต่ค่าเฉลี่ยของการเจริญน้อยกว่าสูตร I คือมีการเจริญในระดับค่อนข้างมากเท่านั้น (ค่าน้ำหนัก 2.8) สำหรับการเลี้ยงบนอาหารสูตร III การเจริญพัฒนามีตั้งแต่ในระดับคงที่ถึงมาก (ค่าน้ำหนัก 0-4) โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ในระดับปานกลาง (ค่าน้ำหนัก 2)

วิธีการที่ 3 (TX) การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ตามวิธีการนี้ปรากฏว่า เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร I มีการเจริญเพิ่มขึ้นระหว่าง 0.5-5 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.1-3.0 เซนติเมตร) การเลี้ยงบนอาหารสูตร II มีการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นระหว่าง 1-6 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.2-3.6 เซนติเมตร) ส่วนการเลี้ยงบนอาหารสูตร III มีการเจริญเพิ่มขึ้นระหว่าง 0.5-1.5 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 0.7-1.2 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า การเลี้ยงบนอาหารสูตร I มีการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมากถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 3-5) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับมาก (ค่าน้ำหนัก 3.9) การเลี้ยงบนอาหารสูตร II มีการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 2-5) มีค่าเฉลี่ยของการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 3.5) ส่วนการเลี้ยงบนอาหารสูตร III มี

การเจริญพัฒนาในระดับคงที่ถึงค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 0-3) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับเล็กน้อย (ค่าน้ำหนัก 1.3)

4.3 การเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ภายหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารในสัปดาห์ที่ 3 มีลักษณะการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อแสดงในตารางที่ 20 และ 21

จากตารางที่ 20 และ 21 เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ในสัปดาห์ที่ 3 หลังจากเริ่มปฏิบัติการหรือหลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารนั้น แต่ละวิธีการตัดแบ่ง การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ที่เลี้ยงบนสูตรอาหารทั้ง 3 สูตร ปรากฏผลดังนี้คือ

วิธีการที่ 1 (TP) ลักษณะการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อเมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร I มีการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นระหว่าง 1-8 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.3-4.6 เซนติเมตร) การเลี้ยงบนอาหารสูตร II มีการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นระหว่าง 0.5-5 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.1-3.2 เซนติเมตร) ส่วนการเลี้ยงบนอาหารสูตร III มีการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นเพียง 0.5-1.5 เซนติเมตร เท่านั้น (ค่าเฉลี่ย 0.7-1.2 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า การเลี้ยงบนอาหารสูตร I มีการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 2-5) โดยมีค่าเฉลี่ยของการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นในระดับมาก (ค่าน้ำหนัก 3.9) การเลี้ยงบนอาหารสูตร II มีการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมากถึงมาก (ค่าน้ำหนัก 3-4) มีค่าเฉลี่ยของการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 3.5) ส่วนการเลี้ยงบนอาหารสูตร III มีการเจริญพัฒนาในระดับคงที่ถึงปานกลาง (ค่าน้ำหนัก 0-2) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับเล็กน้อย (ค่าน้ำหนัก 1.3)

วิธีการที่ 2 (TPp) ลักษณะการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ตามวิธีการนี้ เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร I มีการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นระหว่าง 1-7.5 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.4-3.4 เซนติเมตร) การเลี้ยงบนอาหารสูตร II มีการเจริญพัฒนาเพิ่ม

ตารางที่ 20 ความสูงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 3 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากสูตรอาหาร (หน่วย: ซม.)

สัปดาห์ที่	วิธีการที่ 1 (TP)			วิธีการที่ 2 (TPp)			วิธีการที่ 3 (TX)		
	สูตรอาหาร								
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
4	1.5-2.5	1-2	1-1.5	1.5-2.5	1-2.5	1-2	.5-1.5	.5-1	.5-1
7	1.5-3	1-3	.5-1	3-4	3-5	.5-1	3-5	1-4	.5-1
11	1.5-3.5	2-2.5	.5-1	1-3	1-2	.5-1	2.5-3	2-3	.5-1
15	1.5-8	1.5-5		1-7.5	1-6		1-6	.5-6	
19	1.5-3	1.5-2		1.5-3	1.5-2.5		5-6	1-3.5	
22	1-6	.5-3		1-2	1.5-2		1-4	2-3	
26	1-5	.5-4		1-2.5	1.5-2		1-5	1-3	
30	1-6	1-4		1-3	1-2.5		1-6	1-2.5	
เฉลี่ย	1.3-4.6	1.1-3.2	.7-1.2	1.4-3.4	1.4-3	.7-1.3	1.8-4.5	1.1-3.3	.5-1

เฉลี่ยรวม 3วิธีการ สูตร I 1.5-4.2 สูตร II 1.2-3.2 สูตร III .6-1.2

ตารางที่ 21 ค่าเฉลี่ยการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในสัปดาห์ที่ 3 หลังการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร เมื่อพิจารณาจากสูตรอาหาร โดยวิธีการให้ค่าน้ำหนัก

สัปดาห์ที่	วิธีการที่ 1 (TP)			วิธีการที่ 2 (TPp)			วิธีการที่ 3 (TX)		
	สูตรอาหาร								
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
4	4	4	2	4	5	3	4	5	3
7	2	3	2	3	4	1	3	2	1
11	4	3	0	3	4	0	5	4	0
15	5	4		5	5		4	4	
19	4	3		4	3		5	4	
22	5	4		3	3		5	4	
26	2	3		2	3		2	3	
31	5	4		5	4		5	4	
เฉลี่ย	3.9	3.5	1.3	3.6	3.9	1.3	4.1	3.8	1.3

เฉลี่ยรวมทั้ง 3 วิธีการ สูตร I 3.9 สูตร II 3.7 สูตร III 1.3

ขึ้นระหว่าง 1-6 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.4-3.0 เซนติเมตร) ส่วนการเลี้ยงบนอาหารสูตร III มีการเจริญเพียงเล็กน้อยคือระหว่าง 0.5-2 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 0.7-1.3 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า การเลี้ยงบนอาหารสูตร I มีการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 2-5) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับมาก (ค่าน้ำหนัก 3.6) การเลี้ยงบนอาหารสูตร II มีการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมากถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 3-5) มีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับมาก (ค่าน้ำหนัก 3.9) ส่วนการเลี้ยงบนอาหารสูตร III มีการเจริญพัฒนาในระดับคงที่ถึงค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 0-3) มีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย (ค่าน้ำหนัก 1.3)

วิธีการที่ 3 (TX) ลักษณะการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ตามวิธีการนี้ปรากฏว่า เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร I การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อมีการเจริญเพิ่มขึ้นระหว่าง 0.5-6 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.8-4.5 เซนติเมตร) ถ้าเลี้ยงบนอาหารสูตร II ในด้านความสูงส่วนใหญ่ด้อยกว่าการเลี้ยงบนอาหารสูตร I เล็กน้อย โดยมีการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้นระหว่าง 0.5-6 เซนติเมตร (ค่าเฉลี่ย 1.1-3.3 เซนติเมตร) การเลี้ยงบนอาหารสูตร III เป็นสูตรอาหารที่ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด คือเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นเพียง 0.5-1 เซนติเมตรเท่านั้น (ค่าเฉลี่ย 0.5-1 เซนติเมตร) เมื่อพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า การเลี้ยงบนอาหารสูตร I การเจริญพัฒนามีค่าเฉลี่ยมากกว่าสูตรอาหารอื่นๆ โดยมีการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 2-5) มีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับมาก (ค่าน้ำหนัก 4.1) สำหรับการเลี้ยงบนอาหารสูตร II มีการเจริญด้อยกว่าเล็กน้อย การเจริญมีค่าเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 2-5) โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับมาก (ค่าน้ำหนัก 3.8) ส่วนการเลี้ยงบนอาหารสูตร III ซึ่งมีข้อมูลน้อยเพียง 3 ครั้ง ปรากฏว่ามีการเจริญพัฒนาในระดับคงที่ถึงค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 0-3) และมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นในระดับเล็กน้อย (ค่าน้ำหนักเพียง 1.3)

5. ปริมาณการแตกตาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่อง เพื่อขยายพันธุ์ครั้งนี้ปรากฏว่าเมื่อพิจารณาจาก ขนาดของหน่อที่นำมาใช้ปฏิบัติการ วิธีการตัดชิ้นส่วน และอาหารที่ใช้เลี้ยง ปริมาณการแตกตาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ในระหว่างช่วงสัปดาห์ที่ทำการตรวจนับแต่ละช่วง แสดงในตารางที่ 22

จากตารางที่ 22 จะเห็นว่าเมื่อพิจารณาจากวิธีการตัดแบ่ง ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมีการแตกตาเพิ่มขึ้นดังนี้คือ

วิธีการที่ 1 (TP) ปรากฏว่า ในการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อครั้งที่ 2 (สัปดาห์ที่ 9) ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อซึ่งเลี้ยงบนอาหารสูตร Iและ II มีการแตกตาต่ำที่สุดคือ 1 ตา และสูงที่สุดคือ 7 ตา โดยมีค่าเฉลี่ยประมาณ 1-4 ตา สำหรับการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อครั้งที่ 6 (สัปดาห์ที่ 25) มีการแตกตาลดจำนวนลง ส่วนใหญ่ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมีการแตกตาเพียง 1-3 ตา เท่านั้น ส่วนการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อครั้งที่ 7 (สัปดาห์ที่ 28) มีการแตกตาเพิ่มขึ้นเป็น 2-5 ตา แต่ส่วนใหญ่เฉลี่ยประมาณ 2-3 ตา เมื่อพิจารณาการแตกตา จากค่าเฉลี่ยในด้านขนาดของหน่อ และสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อทั้ง 2 สูตร ปรากฏว่าค่าเฉลี่ยรวมของการแตกตาตามการตัดแบ่งโดยวิธีที่ 1 นี้ มีค่าประมาณ 1-4 ตา

วิธีการที่ 2 (TPp) การแตกตาหลังจากการตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 2 (สัปดาห์ที่ 9) ลดลงจากการตัดแบ่งตามวิธีการที่ 1 บ้างเล็กน้อย กล่าวคือมีการแตกตาประมาณ 1-4 ตา โดยมีค่าเฉลี่ยประมาณ 1-3 ตา สำหรับการแตกตาหลังจากการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อครั้งที่ 6 (สัปดาห์ที่ 25) ปรากฏว่าการแตกตามีลักษณะคล้ายคลึงกับการแตกตาในระยะแรก โดยมีการแตกตาสูงสุด 1-5 ตา แต่มีค่าเฉลี่ยประมาณ 1-3 ตาเช่นเดียวกัน ส่วนการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อครั้งที่ 7 (สัปดาห์ที่ 28) มีการแตกตาประมาณ 1-4 ตา ค่าเฉลี่ยประมาณ 2-3 ตา แต่เมื่อพิจารณาการแตกตาของชิ้นส่วน

ตารางที่ 22 ปริมาณการแตกตาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ในสัปดาห์ต่างๆตามขนาดของหน่อ วิธีการตัดแบ่ง และสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยง

วิธีการตัดแบ่ง	สัปดาห์ที่	อาหารสูตร I ขนาดหน่อ (ซม.) 20	50	70	อาหารสูตร I ขนาดหน่อ (ซม.) 20	50	70
TP	9	1-3	1-7	1-4	1-6	2-4	1-4
	25	1-3	1-3	1-2	1-3	1-3	1-2
	28	2-5	2-3	2-3	2-4	2-3	1-3
เฉลี่ย		1-4	1-4	1-3	1-4	2-3	1-3
เฉลี่ยรวม	1-4						
TPp	9	1-2	2-4	1-2	2-4	1-3	1-2
	25	1-3	1-4	1-5	1-3	1-3	1-3
	28	2-4	2-3	2-3	2-4	1-4	2-3
เฉลี่ย		1-3	2-4	1-3	2-4	1-3	1-3
เฉลี่ยรวม	1-3						

ตารางที่ 22 (ต่อ)

วิธีการ	สัปดาห์ที่	อาหารสูตร I ขนาดหน่อ (ซม.)			อาหารสูตร I ขนาดหน่อ (ซม.)		
ตัดแบ่ง		20	50	70	20	50	70
	9	1-2	1-2	1-3	1-2	1-2	1-3
TX	25	1-2	1-2	1-2	1-3	1-2	1-2
	28	1-2	1-2	2-3	1-2	1-2	1-3
เฉลี่ย		1-2	1-2	1-3	1-2	1-2	1-3
เฉลี่ยรวม	1-2						

เนื้อเยื่อ จากค่าเฉลี่ยในด้านขนาดของหน่อ และสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงทั้ง 2 สูตรแล้ว ปรากฏว่า ค่าเฉลี่ยรวมของการแตกตา ตามวิธีการตัดแบ่งแบบที่ 2 นี้ ประมาณ 1-3 ตา เช่นกัน

วิธีการที่ 3 (TX) ลักษณะการแตกตาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ตามวิธีการตัดแบ่งครั้งที่ 2 (สัปดาห์ที่ 9) ลดลงจากการตัดแบ่งตามวิธีการที่ 1 และ 2 เล็กน้อย โดยมีการแตกตาประมาณ 1-3 ตา ค่าเฉลี่ยประมาณ 1-2 ตา ส่วนการแตกตาหลังจากการตัดแบ่งครั้งที่ 6 และครั้งที่ 7 (สัปดาห์ที่ 25 และ 28) มีการแตกตาคล้ายคลึงกับการตัดแบ่งครั้งที่ 2 คือมีการแตกตาประมาณ 1-3 ตา แต่ค่าเฉลี่ยประมาณ 1-2 ตา และเมื่อพิจารณาจากค่าเฉลี่ยรวม ตามวิธีการตัดแบ่งนี้ทั้งด้านขนาดของหน่อ และสูตรอาหาร 2 สูตรแล้ว ปรากฏว่ามีค่าประมาณ 1-2 ตา ซึ่งน้อยกว่าการตัดแบ่งตามวิธีการที่ 1 และ 2

6. อัตราการเพิ่มปริมาณหน่อกล้วยและการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ในการปฏิบัติงานขยายพันธุ์กล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่องครั้งนี้ ได้ทำการนับปริมาณหน่อกล้วยที่เพิ่มขึ้นจากหน่อเดิม 1 หน่อ ในช่วงสัปดาห์ต่างๆตั้งแต่เริ่มปฏิบัติการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลองรวม 5 ระยะ สามารถสรุปปริมาณหน่อกล้วยที่เพิ่มขึ้นตามวัตถุประสงค์ของการวิจัย โดยพิจารณาจากตัวแปรในด้านต่างๆคือ ขนาดความสูงของหน่อเดิมที่ใช้ปฏิบัติการ วิธีการตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ และสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ปริมาณการเพิ่มของหน่อ อัตราส่วนของการเพิ่มในแต่ละช่วงสัปดาห์แสดงในตารางที่ 23,24,25 และกราฟที่ 1,2, และ 3 ในการพิจารณาปรากฏผลดังนี้คือ

การเลี้ยงชิ้นส่วนบนอาหารสูตรที่ I

จากตารางที่ 23,24,25 และกราฟที่ 1 การเพิ่มปริมาณของหน่อกล้วยขนาด 20 เซนติเมตร เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร I แต่ละวิธีการตัดชิ้นส่วนทั้ง 3 วิธีการมีแนวโน้มการเพิ่มปริมาณหน่อกล้วยเป็นไปในทำนองเดียวกัน กล่าวคือ ในการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อครั้งที่ 2 (สัปดาห์ที่ 8-11) มีการเพิ่มปริมาณจากหน่อเดิม 1 หน่อ หรือ 1 ชิ้น เป็น 3 ชิ้น คิดเป็นอัตราส่วน 1:3 ในวิธีการตัดชิ้นส่วนตามวิธีที่ 1(TP) และวิธีที่ 2 (TPp) ส่วนวิธีที่ 3 (TX) ชิ้นส่วนซึ่งจะพัฒนาไปเป็นหน่อต่อไป ยังคงมีปริมาณเท่าเดิมคือ 4 ชิ้น ในช่วงการตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 4 (สัปดาห์ที่ 16-19) มีปริมาณการเพิ่มหน่อตามวิธีการที่ 1 (TP) ในอัตรา 1:4 แต่การตัดชิ้นส่วนตามวิธีการที่ 2 (TPp) มีปริมาณการเพิ่มหน่อในอัตราที่น้อยกว่าคือ 1:2.7 และวิธีการที่ 3 (TX) มีปริมาณการเพิ่มหน่อในอัตรามากที่สุดคือ 1:6.5 สำหรับช่วงการตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 5 (สัปดาห์ที่ 20-22) แต่ละวิธีการตัดชิ้นส่วน มีปริมาณการเพิ่มของหน่อ ในอัตราที่ใกล้เคียงกันคือ 1:2.5, 1:2.6 และ 1:2.4 ในแต่ละวิธีการตัดแบ่งทั้ง 3 วิธีการนั้น การตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 7 (สัปดาห์ที่ 28-31) ปริมาณการเพิ่มของหน่อได้เพิ่มมากขึ้นอีกครั้งหนึ่ง เห็นได้จากวิธีการตัดชิ้นส่วนด้วยวิธีที่ 1 (TP) เพิ่มขึ้นในอัตรา 1:5.5 แต่

ตารางที่ 23 ปริมาณหน่อที่เพิ่มขึ้นในช่วงสัปดาห์ต่างๆ เมื่อพิจารณาจาก ขนาดของหน่อ วิธีการตัดชิ้นส่วน และสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อ

สัปดาห์ที่	วิธีการตัดชิ้นส่วน	อาหารสูตร I ขนาดของหน่อ (ซม.)			อาหารสูตร II ขนาดของหน่อ (ซม.)		
		20	50	70	20	50	70
1-4	TP	1	1	1	1	1	1
	TPp	1	1	1	1	1	1
	TX	4	4	4	4	4	4
8-11	TP	3	4	3	3	3	3
	TPp	3	4	4	4	3	4
	TX	4	5	3	3	4	4
16-19	TP	12	10	10	8	8	7
	TPp	8	10	11	12	9	9
	TX	26	26	27	26	27	28
20-22	TP	27	25	21	23	19	18
	TPp	21	20	23	18	12	18
	TX	63	65	61	70	82	92
28-31	TP	149	143	145	152	146	147
	TPp	157	150	154	158	150	152
	TX	445	345	358	358	429	425

ตารางที่ 24 อัตราการเพิ่มปริมาณหน่อในแต่ละช่วงสัปดาห์ เมื่อพิจารณาจากการเลี้ยงบนอาหารสูตร I

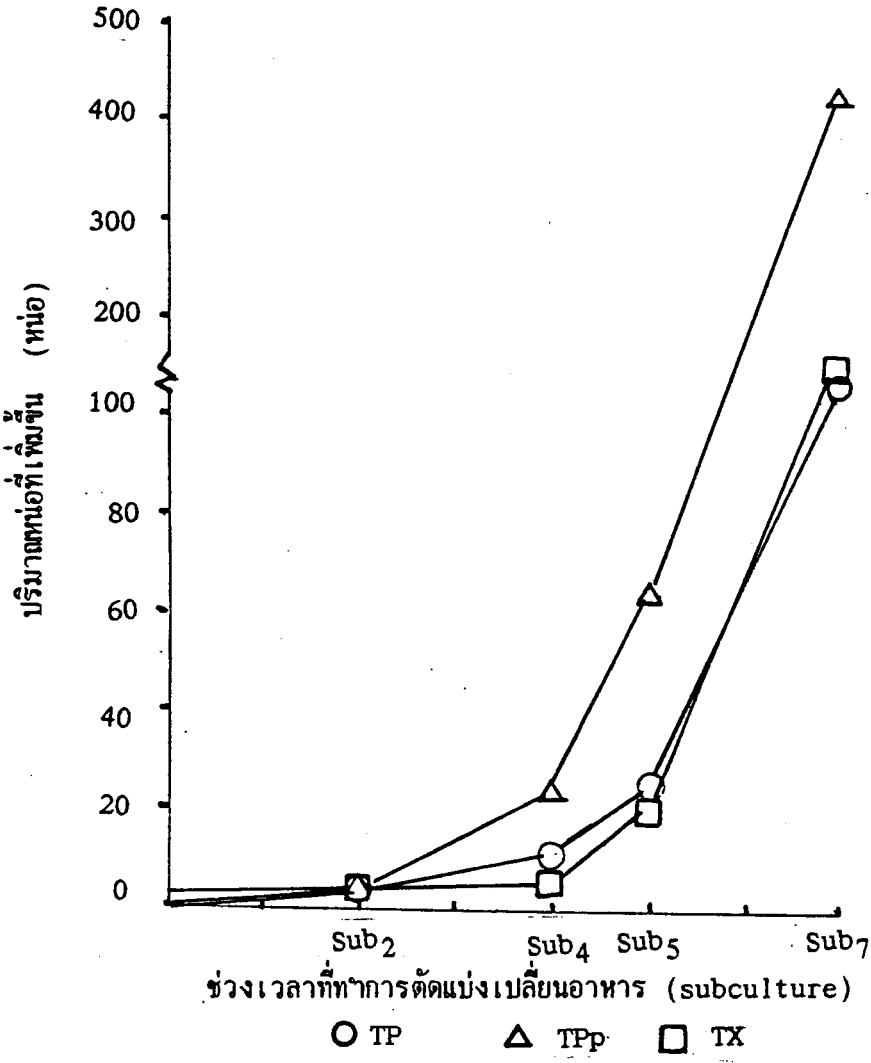
ขนาดหน่อ (ซม.)	วิธีการตัดชิ้นส่วน	ช่วงสัปดาห์ (อัตราส่วนที่เพิ่มขึ้น) 1-4		8-11		16-19		20-22		28-31
20	TP	1	(1:3)	3	(1:4)	12	(1:2.5)	27	(1:5.5)	149
	TPp	1	(1:3)	3	(1:2.7)	8	(1:2.6)	21	(1:7.5)	157
	TX	4	(1:0)	4	(1:6.5)	26	(1:2.4)	63	(1:7.1)	445
50	TP	1	(1:4)	4	(1:2.5)	10	(1:2.4)	24	(1:5.9)	143
	TPp	1	(1:4)	4	(1:2.5)	10	(1:2.0)	20	(1:7.5)	150
	TX	4	(1:1.3)	5	(1:5.2)	26	(1:2.5)	65	(1:5.3)	345
70	TP	1	(1:3)	3	(1:3.3)	10	(1:2.1)	21	(1:6.9)	145
	TPp	1	(1:4)	4	(1:2.8)	11	(1.2.1)	23	(1:6.7)	154
	TX	4	(1:0)	3	(1:9)	27	(1:2.3)	61	(1:5.9)	358

ตารางที่ 25 อัตราการเพิ่มปริมาณหน่อในแต่ละช่วงสัปดาห์ เมื่อพิจารณาจากการเลี้ยงบนอาหารสูตร II

ขนาดหน่อ (ซม.)	วิธีการตัดชิ้นส่วน	ช่วงสัปดาห์ (อัตราส่วนที่เพิ่มขึ้น) 1-4	8-11	16-19	20-22	28-31
20	TP	1 (1:3)	3 (1:2.7)	8 (1:2.9)	23 (1:6.6)	152
	TPp	1 (1:4)	4 (1:3)	12 (1:1.5)	18 (1:8.8)	158
	TX	4 (1:0)	3 (1:8.7)	26 (1:2.7)	70 (1:5.1)	358
50	TP	1 (1:3)	3 (1:2.7)	8 (1:2.4)	19 (1:7.7)	146
	TPp	1 (1:3)	3 (1:3)	9 (1:1.3)	12 (1:12.5)	150
	TX	4 (1:0)	4 (1:6.8)	27 (1:3)	82 (1:5.2)	429
70	TP	1 (1:3)	3 (1:2.3)	7 (1:2.6)	18 (1:8.2)	147
	TPp	1 (1:4)	4 (1:2.3)	9 (1:2)	18 (1:8.4)	152
	TX	4 (1:0)	4 (1:7)	28 (1:3.3)	92 (1:4.6)	425

ตารางที่ 25 (ต่อ)

วิธีการตัด ชิ้นส่วน	เฉลี่ยทั้ง2 สูตรอาหาร	ช่วงสัปดาห์ (อัตราส่วนที่เพิ่มขึ้น) 1-4	8-11	16-19	20-22	28-31
TP	147	1:3.2	1:2.9	1:2.4	1:6.8	
TPp	154	1:3.7	1:2.7	1:1.9	1:8.6	
TX	393	1:0.2	1:7.2	1:2.7	1:5.5	

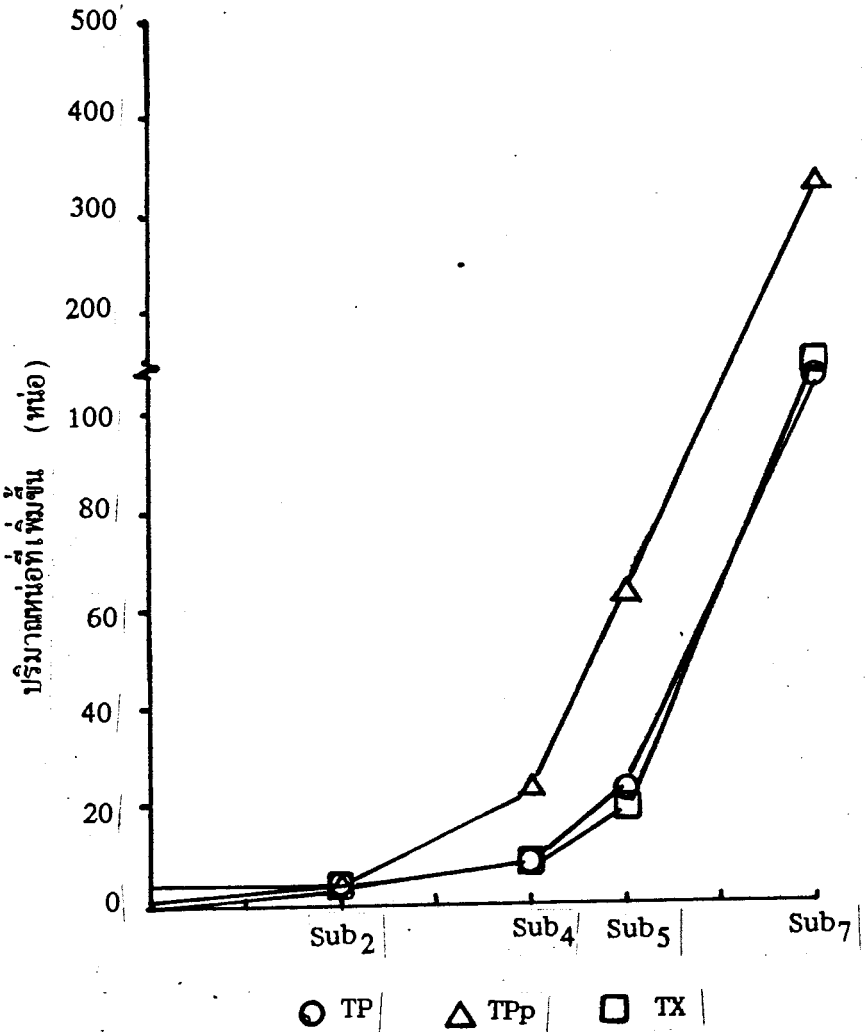


กราฟที่ 1 ปริมาณหน่อกล้วยที่เพิ่มขึ้นแต่ละช่วงการตัดแบ่งของหน่อกล้วยขนาด 20 เซนติเมตร เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ I

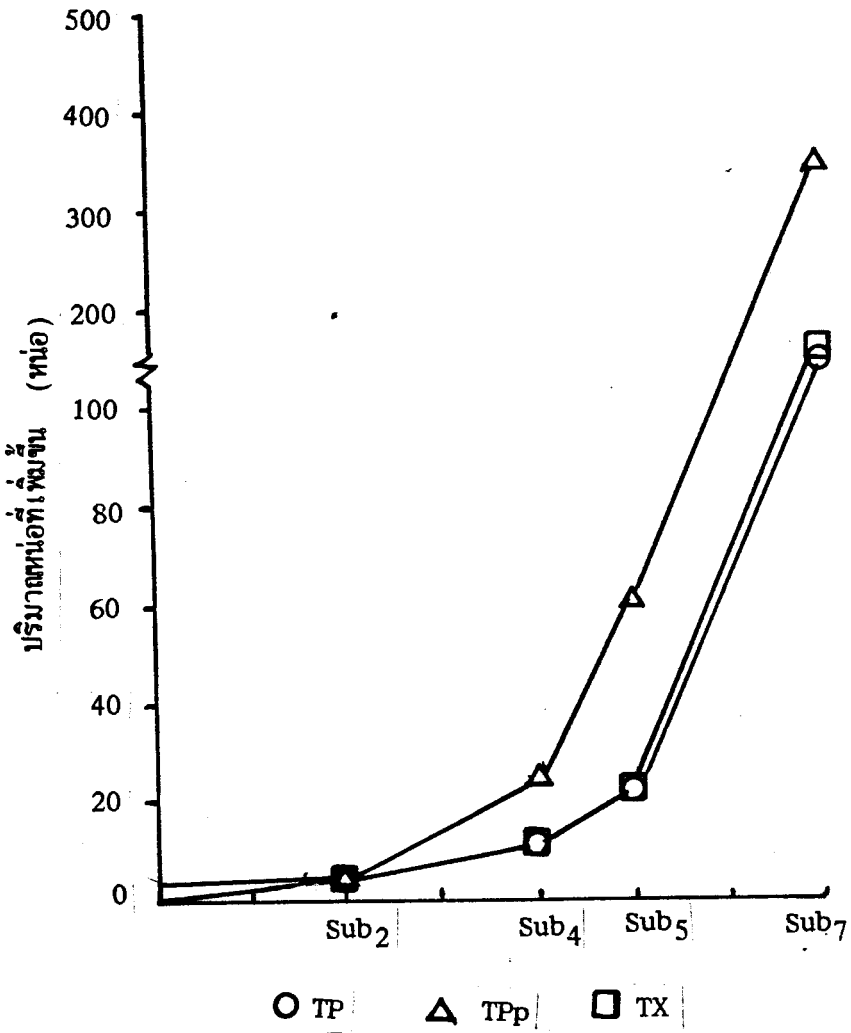
วิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 2 (TPp) และ 3 (TX) เพิ่มขึ้นมากกว่า โดยเพิ่มขึ้นในอัตรา ส่วนที่ใกล้เคียงกันคือ 1:7.5 และ 1:7.1 ตามลำดับ

จากกราฟที่ 2 เมื่อใช้หน่อกล้วยขนาด 50 เซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารสูตร I โดยใช้วิธีการตัดชิ้นส่วนทั้ง 3 วิธีการ เหมือนกับหน่อขนาด 20 เซนติเมตร ผลปรากฏว่า การเพิ่มปริมาณของหน่อกล้วย เป็นไปในทำนองเดียวกันกับการใช้ขนาด 20 เซนติเมตร กล่าวคือ ในการตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 2 (สัปดาห์ที่ 8-11) มีอัตราการเพิ่มประมาณ 1:4 ในวิธีการตัดชิ้นส่วนด้วยวิธีการที่ 1(TP) และวิธีการที่ 2 (TPp) ส่วนวิธีการที่ 3 (TX) เพิ่มขึ้นเพียง 1:1.3 สำหรับการตัดแบ่งครั้งที่ 4 (สัปดาห์ที่ 16-19) ปริมาณการเพิ่มของหน่อเพิ่มขึ้นในอัตราส่วนที่ใกล้เคียงกัน ในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 1(TP) และวิธีที่ 2 (TPp) คือ 1:2.5 ส่วนการตัดชิ้นส่วนตามวิธีการที่ 3 (TX) เพิ่มขึ้นในอัตรา 1:5.2 การตัดแบ่งครั้งที่ 5 (สัปดาห์ที่ 20-22) ปริมาณการเพิ่มของหน่อเพิ่มขึ้นในอัตราส่วนที่ใกล้เคียงกันทั้ง 3 วิธีการตัดชิ้นส่วนคือเพิ่มขึ้นในอัตรา 1:2.4, 1:2 และ 1:2.5 ตามลำดับ สำหรับช่วงสุดท้ายคือการตัดแบ่งครั้งที่ 7 (สัปดาห์ที่ 28-31) ก็มีปริมาณการเพิ่มของหน่อในอัตราส่วนที่ใกล้เคียงกัน โดยเพิ่มขึ้นในอัตรา 1:5.9, 1:7.5 และ 1:5.3 ตามลำดับของวิธีการตัดชิ้นส่วน

จากกราฟที่ 3 เมื่อใช้หน่อกล้วยขนาด 70 เซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารสูตร I ใช้วิธีการตัดชิ้นส่วนทั้ง 3 วิธีการ ผลปรากฏว่า อัตราการเพิ่มปริมาณหน่อกล้วยมีลักษณะคล้ายคลึงกับการใช้หน่อกล้วยขนาด 20 และ 50 เซนติเมตร กล่าวคือ ในการตัดแบ่งครั้งที่ 2 (สัปดาห์ที่ 8-11) การเพิ่มปริมาณหน่อกล้วยเพิ่มขึ้นในอัตรา 1:3, 1:4,และ 1:0 ตามวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ การตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 4 (สัปดาห์ที่ 16-19) การเพิ่มปริมาณหน่อกล้วยเพิ่มขึ้นในอัตรา 1:3.3, 1:2.8 และ 1:9 ซึ่งจะเห็นว่าในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 2 (TPp) มีอัตราการเพิ่มในปริมาณที่ลดลง แต่ในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 3 (TX) มีอัตราการเพิ่มหน่อในปริมาณที่มากกว่าวิธีที่ 1,2



กราฟที่ 2 ปริมาณหน่อกล้วยที่เพิ่มขึ้นแต่ละช่วงการตัดแบ่งของหน่อกล้วยขนาด 50 เซนติเมตร เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ I

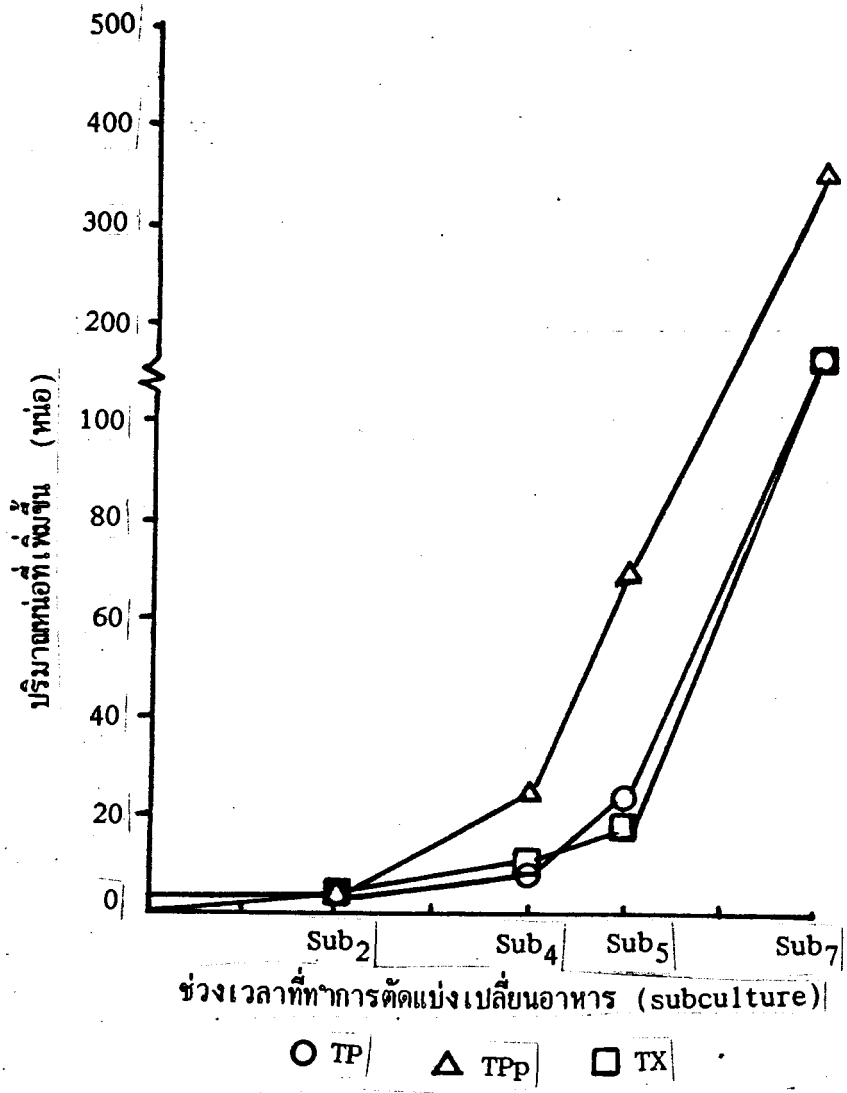


กราฟที่ 3 ปริมาณหน่อกล้วยที่เพิ่มขึ้นแต่ละช่วงการตัดแบ่งของหน่อกล้วยขนาด 70 เซนติเมตร เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ I

มาก และยังมีปริมาณการเพิ่มหน่อมากกว่าการใช้ขนาด 20 และ 50 เซนติเมตรเลี้ยงด้วย ในการตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 5 (สัปดาห์ที่ 20-22) ปริมาณการเพิ่มหน่อเพิ่มขึ้นในอัตราส่วนที่คล้ายคลึงกับการใช้หน่อขนาด 20 และ 70 เซนติเมตร คือเพิ่มในอัตรา 1:2.1, 1:2.1, และ 1:2.3 ตามวิธีการตัดชิ้นส่วนทั้ง 3 วิธีตามลำดับ ส่วนการตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 7 (สัปดาห์ที่ 28-31) การเพิ่มปริมาณหน่อเพิ่มขึ้นในอัตราที่ใกล้เคียงกันทั้ง 3 วิธีการตัดชิ้นส่วน โดยเพิ่มขึ้นในอัตรา 1:6.9, 1:6.7 และ 1:5.9 ตามลำดับ

การเลี้ยงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อบนอาหารสูตรที่ II

จากกราฟที่ 4 เมื่อใช้หน่อกล้วยขนาด 20 เซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารสูตร II ด้วยวิธีการตัดชิ้นส่วนทั้ง 3 วิธีการ อัตราการเพิ่มปริมาณหน่อปรากฏผลดังนี้คือ ในการตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 2 (สัปดาห์ที่ 8-11) ปริมาณการเพิ่มหน่อกล้วยคล้ายคลึงกับการเลี้ยงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อบนอาหารสูตร I โดยเพิ่มขึ้นในอัตรา 1:3, 1:4 และ 1:0 ตามวิธีการตัดชิ้นส่วนทั้ง 3 วิธีตามลำดับ การตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 4 (สัปดาห์ที่ 16-19) การเพิ่มปริมาณหน่อในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 1 (TP) มีอัตราการเพิ่มน้อยกว่าการเลี้ยงบนอาหารสูตร I เล็กน้อย แต่วิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 2 (TPp) และ 3 (TX) มีอัตราการเพิ่มในปริมาณที่มากกว่าคือเพิ่มขึ้นในอัตรา 1:2.7, 1:3 และ 1:8.7 ตามลำดับของการตัดชิ้นส่วนทั้ง 3 วิธีการ ในการตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 5 (สัปดาห์ที่ 20-22) การเพิ่มปริมาณหน่อกล้วย มีลักษณะคล้ายคลึงกับการเลี้ยงบนอาหารสูตร I แต่การเพิ่มปริมาณหน่อในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 2 (TPp) น้อยกว่าการเลี้ยงบนอาหารสูตร I บ้างเล็กน้อย โดยเพิ่มขึ้นในอัตรา 1:2.9, 1:1.5 และ 1:2.7 ตามลำดับ สำหรับการตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 7 (สัปดาห์ที่ 28-31) การเพิ่มปริมาณหน่อในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 1 (TP) และ (TPp) มากกว่าการเลี้ยงบนอาหารสูตร I เล็กน้อย แต่ในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 3 (TX) มีอัตราการเพิ่มในปริมาณที่น้อยกว่า โดย

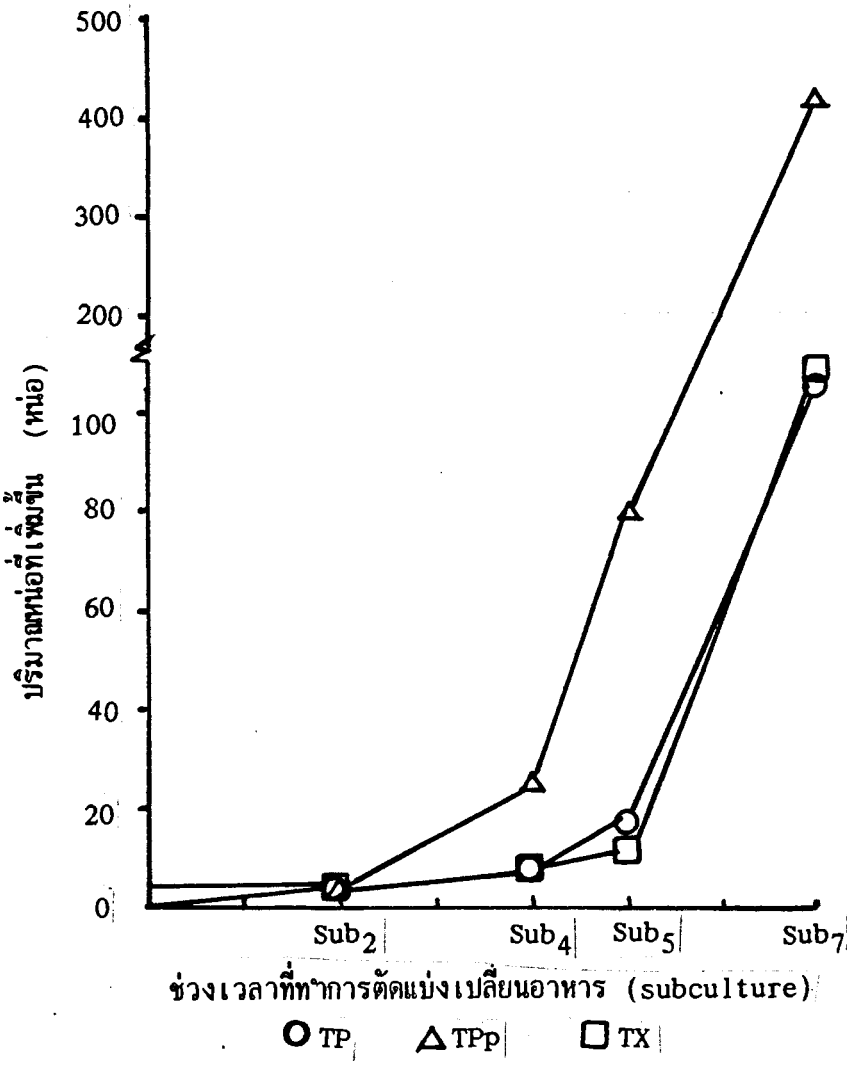


กราฟที่ 4 ปริมาณหน่อกล้วยที่เพิ่มขึ้นแต่ละช่วงการตัดแบ่งของหน่อกล้วยขนาด 20 เซนติเมตร เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ II

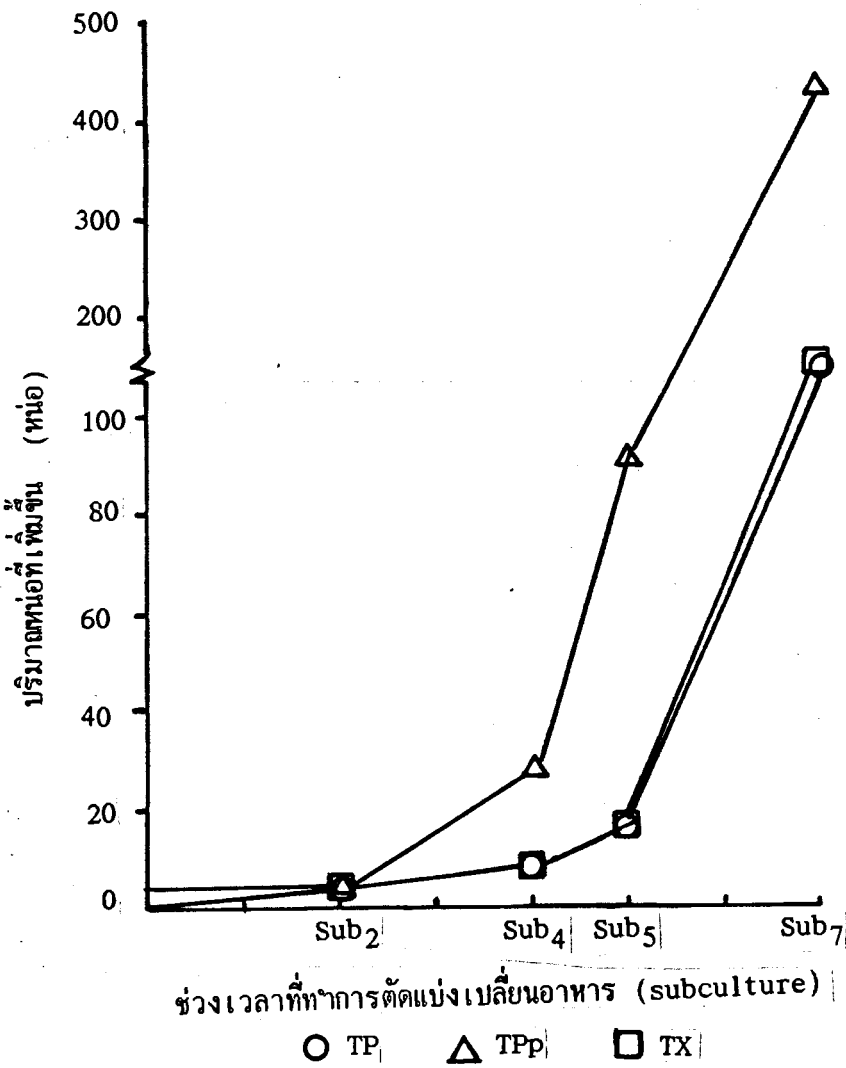
เพิ่มขึ้นในอัตรา 1:6.6, 1:8.8 และ 1:5.1 ตามลำดับ

จากกราฟที่ 5 เมื่อใช้หน่อกล้วยขนาด 50 เซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารสูตร II ด้วยวิธีการตัดชิ้นส่วนทั้ง 3 วิธีการ ปริมาณหน่อที่เพิ่มขึ้น ปรากฏผลดังนี้ คือ ในการตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 2 (สัปดาห์ที่ 8-11) การเพิ่มปริมาณหน่อกล้วยมีอัตราเพิ่มขึ้นน้อยกว่าการเลี้ยงบนอาหารสูตร I เล็กน้อย โดยเพิ่มในอัตรา 1:3, 1:3 และ 1:0 ตามวิธีการตัดชิ้นส่วนทั้ง 3 วิธีการตามลำดับ การตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 4(สัปดาห์ที่ 16-19) การเพิ่มปริมาณหน่อกล้วย มีลักษณะใกล้เคียงกับการเลี้ยงบนอาหารสูตร I แต่ปริมาณการเพิ่มของหน่อกล้วยในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 2 (TPp) และวิธีที่ 3 (TX) มีอัตราการเพิ่มมากกว่าเล็กน้อย โดยเพิ่มในอัตรา 1:2.7, 1:3 และ 1:6.8 ตามลำดับ สำหรับการตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 5 (สัปดาห์ที่ 20-22) การเพิ่มปริมาณหน่อมีลักษณะคล้ายคลึงกับการเลี้ยงบนอาหารสูตร I แต่ปริมาณการเพิ่มหน่อกล้วยในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 2 (TPp) มีอัตราการเพิ่มน้อยกว่า และวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 3 (TX) มีอัตราการเพิ่มในปริมาณที่มากกว่าเล็กน้อย โดยเพิ่มขึ้นในอัตรา 1:2.4, 1:1.3 และ 1:3.0 ตามลำดับ สำหรับการตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 7 สุดท้าย (สัปดาห์ที่ 28-31) ปริมาณการเพิ่มหน่อกล้วยในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 3 (TX) มีอัตราการเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกัน แต่ปริมาณการเพิ่มหน่อกล้วยในวิธีการตัดแบ่งวิธีที่ 1 (TP) และ วิธีที่ 2 (TPp) มีปริมาณการเพิ่มหน่อในอัตราที่เพิ่มขึ้นมากกว่ามาก คือเพิ่มขึ้นในอัตรา 1:7.7, 1:12.5 และ 1:5.2 ตามลำดับ

จากกราฟที่ 6 เมื่อใช้หน่อกล้วยขนาด 70 เซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารสูตร II ด้วยวิธีการตัดชิ้นส่วนทั้ง 3 วิธีการ ปริมาณการเพิ่มขึ้นของหน่อกล้วยปรากฏผลดังนี้คือ ในการตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 2 (สัปดาห์ที่ 8-11) ปริมาณการเพิ่มขึ้นของหน่อกล้วยมีอัตราส่วนเท่ากับการเลี้ยงบนอาหารสูตร I กล่าวคือ มีอัตราการเพิ่มเป็น 1:3, 1:4 และ 1:0 ตามวิธีการตัดชิ้นส่วนทั้ง 3 วิธีการตามลำดับ ในการตัดแบ่ง



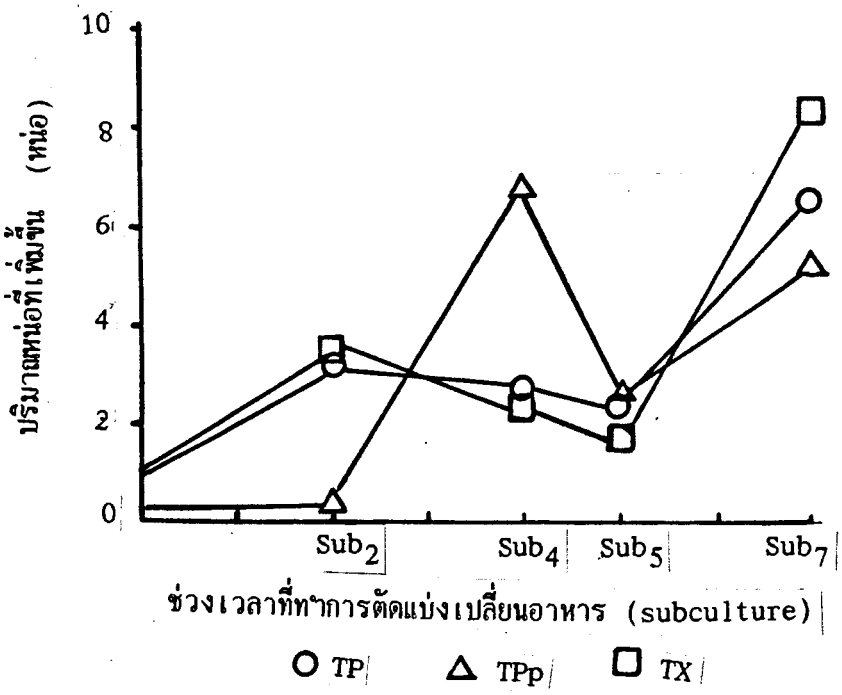
กราฟที่ 5 ปริมาณหน่อกล้วยที่เพิ่มขึ้นแต่ละช่วงการตัดแบ่งของหน่อกล้วยขนาด 50 เซนติเมตร เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ II



กราฟที่ 6 ปริมาณหน่อกล้วยที่เพิ่มขึ้นแต่ละช่วงการตัดแบ่งของหน่อกล้วยขนาด 70 เซนติเมตร เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ II

เนื้อเยื่อครั้งที่ 4 (สัปดาห์ที่ 16-19) ปริมาณการเพิ่มหน่อกล้วยทั้ง 3 วิธีการตัดชิ้นส่วนมีปริมาณการเพิ่ม ในอัตราที่น้อยกว่าการเลี้ยงบนอาหารสูตร I โดยเพิ่มขึ้นในอัตรา 1:2.3, 1:2.3 และ 1:7 ตามลำดับ ในการตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 5 (สัปดาห์ที่ 20-22) ปริมาณการเพิ่มหน่อกล้วย มีลักษณะใกล้เคียงกับการเลี้ยงบนอาหารสูตร I แต่การเพิ่มของหน่อในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 3 (TX) มีอัตราเพิ่มขึ้นมากกว่าเล็กน้อย โดยเพิ่มในอัตรา 1:2.6, 1:2 และ 1:3.3 ตามลำดับ สำหรับการตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่7 สุดท้าย (สัปดาห์ที่ 28-31) ปริมาณการเพิ่มหน่อกล้วยในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 1 (TP) และวิธีที่ 2 (TPp) มีปริมาณการเพิ่มขึ้น ในอัตราที่มากกว่าการเลี้ยงบนอาหารสูตร I มาก โดยเพิ่มในอัตรา 1:8.2 และ 1:8.4 แต่วิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 3 (TX) มีอัตราการเพิ่มขึ้นของหน่อกล้วย ในปริมาณที่น้อยกว่าเล็กน้อย โดยเพิ่มในอัตรา 1:4.6

จากกราฟที่ 7 เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของทั้ง 2 สูตรอาหาร และขนาดทั้ง 3 ขนาด (20, 50 และ 70 เซนติเมตร) ปรากฏว่า ในการตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 2 (สัปดาห์ที่ 8-11) โดยตัดชิ้นส่วนตามวิธีการที่ 1 (TP) และวิธีการที่ 2 (TPp) ปริมาณการเพิ่มขึ้นของหน่อมีอัตราส่วนใกล้เคียงกันคือ 1:3.2 และ 1:3.7 ตามลำดับ ส่วนการตัดชิ้นส่วนในวิธีการที่ 3 (TX) ในระยะนี้เกือบไม่มีการเพิ่มหน่อเกิดขึ้น คือมีอัตราการเพิ่มเพียง 1:0.2 เท่านั้น สำหรับการตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 4 (สัปดาห์ที่ 16-19) ปริมาณการเพิ่มหน่อกล้วยมีอัตราการเพิ่มน้อยกว่าระยะแรกเล็กน้อย ในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 1 (TP) และวิธีการที่ 2 (TPp) คือมีปริมาณการเพิ่มขึ้นในอัตรา 1:2.9 และ 1:2.7 ตามลำดับ ส่วนวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 3 (TX) มีปริมาณการเพิ่มหน่อกล้วยในอัตราที่สูงมากคือ 1:7.2 ในการตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 5 (สัปดาห์ที่ 20-22) ปริมาณการเพิ่มหน่อกล้วยทั้ง 3 วิธีการตัดชิ้นส่วน มีอัตราการเพิ่มใกล้เคียงกันคือ 1:2.4, 1:1.9 และ 1:2.7 ตามลำดับ สำหรับการตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 7 สุดท้าย (สัปดาห์ที่ 28-31) ปริมาณการเพิ่มหน่อกล้วยมีอัตราส่วนแตกต่างกันบ้างเล็กน้อย โดย



กราฟที่ 7 ค่าเฉลี่ยของปริมาณหน่อกล้วยที่เพิ่มขึ้นแต่ละช่วงการตัดแบ่ง

วิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 1 (TP) และวิธีที่ 3 (TX) มีปริมาณการเพิ่มหน่อกล้วยในอัตราส่วนที่ใกล้เคียงกันคือ 1:6.8 และ 1:5.5 แต่วิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 2 (TPp) มีปริมาณการเพิ่มหน่อกล้วยในอัตราที่สูงกว่าคือ 1:8.6

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ในการวิเคราะห์ผลทางสถิติ เพื่อเปรียบเทียบปริมาณหน่อที่เพิ่มขึ้น จากหน่อเดิม 1 หน่อ ที่นำมาใช้ปฏิบัติการวิจัยครั้งแรก เมื่อได้ทำการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อโดยมีขนาดความสูงของหน่อ วิธีการตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ และสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นตัวแปร รวมระยะเวลาที่ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในห้องปฏิบัติการประมาณ 7 เดือน ทำการตัดแบ่งเนื้อเยื่อและเปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 4 สัปดาห์ รวมช่วงระยะเวลาที่ทำการตัดแบ่งเนื้อเยื่อและเปลี่ยนอาหารใหม่ 7 ครั้ง ปริมาณหน่อที่เพิ่มขึ้นเมื่อใช้สัปดาห์ที่ 17 มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยใช้วิธีจัดการทดลองแบบแฟกตอเรียล (factorial experiment) แสดงผลในตารางที่ 26, 27 และ 28

จากตารางที่ 26, 27 และ 28 จะเห็นว่า เมื่อพิจารณาภาพรวมทั้งขนาดของหน่อ วิธีการตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ และสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงแล้ว ปริมาณที่เพิ่มขึ้นจากหน่อเดิม 1 หน่อ ในช่วงระยะเวลา 17 สัปดาห์ ได้ทำการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารใหม่ 4 ครั้ง แต่ละตัวอย่างกระทำ 5 ซ้ำ ปรากฏว่าขนาดของหน่อทั้ง 3 ระดับ (20, 50 และ 70 เซนติเมตร) และสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงทั้ง 2 สูตร (สูตรที่ I, II) รวมทั้งวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 1 และ 2 (Tp, TPp) ไม่ส่งผลให้ปริมาณหน่อที่เพิ่มขึ้นแตกต่างกันมากนัก หรืออาจกล่าวได้ว่ามีอัตราการเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกัน กล่าวคือ

หน่อสูงขนาด 20 เซนติเมตร ในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 1 (TP) และวิธีที่ 2 (TPp) มีปริมาณหน่อเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 12.2 และ 8.8 หน่อ เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ I และเพิ่มขึ้น 10.6 กับ 11.4 หน่อ ในอาหารสูตรที่ II

หน่อสูงขนาด 50 เซนติเมตร ในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 1 (TP) และวิธีที่ 2 (TPp) มีปริมาณหน่อเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 10.6 และ 9.6 หน่อ เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ I และเพิ่มขึ้น 9.0 กับ 10.4 ในอาหารสูตรที่ II

หน่อสูงขนาด 70 เซนติเมตร ในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 1 (TP) และวิธีที่ 2 (TPp) มีปริมาณหน่อเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 9.6 และ 11.2 หน่อ เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ I และเพิ่มขึ้น 9.8 กับ 8.8 ในอาหารสูตรที่ II

แต่ถ้าพิจารณาวิธีการตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อวิธีที่ 1 (TP) และวิธีที่ 2 (TPp) เปรียบเทียบกับวิธีที่ 3 (TX) ปริมาณหน่อที่เพิ่มขึ้นจะแตกต่างกันมาก โดยวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 3 (TX) หน่อขนาด 20 เซนติเมตร มีปริมาณหน่อเพิ่มขึ้นเฉลี่ยถึง 24.6 หน่อ เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ I และ 26.2 หน่อ ในอาหารสูตรที่ II หน่อขนาด 50 เซนติเมตร มีปริมาณเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 29.0 หน่อ ในอาหารสูตรที่ I และ 30.2 หน่อ ในอาหารสูตรที่ II ส่วนหน่อขนาด 70 เซนติเมตร มีปริมาณหน่อเพิ่มขึ้นเฉลี่ย 28.0 หน่อ ในอาหารสูตรที่ I และ 26.0 หน่อ ในอาหารสูตรที่ II และเมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนจึงปรากฏว่า ความสูงของหน่อที่นำมาใช้ปฏิบัติการทั้ง 3 ขนาด (20, 50 และ 70 เซนติเมตร) รวมทั้งสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยง 2 สูตร (คือ สูตรที่ I และ สูตรที่ II) ไม่ส่งผลให้ปริมาณหน่อที่เพิ่มขึ้นมีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่สำหรับวิธีการตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อวิธีที่ 3 (TX) จะมีปริมาณหน่อที่เพิ่มขึ้นแตกต่างจากวิธีที่ 1 (TP) และวิธีที่ 2 (TPp) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .01 หรือมีความเชื่อมั่นได้ร้อยละ 99

ตารางที่ 26 ปริมาณหน่อกล้วยที่เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 17 เมื่อใช้หน่อสูงขนาด 20 เซนติเมตรปฏิบัติการ

สูตรอาหาร	วิธีการตัดชิ้นส่วน	จำนวนซ้ำ R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	TT	$\bar{X}$
I	TP	12	11	15	12	11	61	12.2
	TPp	11	9	8	7	9	44	8.8
	TX	23	26	28	23	23	123	24.6
							X^2	= 4,198
II	TP	10	7	14	10	12	53	10.6
	TPp	10	10	9	16	12	57	11.4
	TX	24	32	26	25	24	131	26.2
		90	95	100	93	91	241	
							X^2	= 4,747

ตารางที่ 27 ปริมาณหน่อกล้วยที่เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 17 เมื่อใช้หน่อสูงขนาด 50 เซนติเมตรปฏิบัติการ

สูตรอาหาร	วิธีการตัดชิ้นส่วน	จำนวนซ้ำ R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	TT	$\bar{X}$
I	TP	12	5	13	10	13	53	10.6
	TPp	10	10	9	7	12	48	9.6
	TX	30	28	26	32	29	145	29.0
								$X^2 = 5,306$
II	TP	10	7	8	6	14	45	9.0
	TPp	11	11	10	9	11	52	10.4
	TX	32	22	34	26	37	151	30.2
		105	83	100	90	116	248	
								$X^2 = 5,698$

ตารางที่ 28 ปริมาณหน่อกล้วยที่เพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 17 เมื่อใช้หน่อสูงขนาด 70 เซนติเมตรปฏิบัติการ

สูตรอาหาร	วิธีการตัดชิ้นส่วน	จำนวนซ้ำ R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	TT	$\bar{X}$
	TP	7	13	11	6	11	48	9.6
I	TPp	8	16	9	12	11	56	11.2
	TX	32	33	27	20	28	140	28.0
						$X^2 = 5,748$		
	TP	9	11	9	12	8	49	9.8
II	TPp	9	11	7	8	9	44	8.8
	TX	31	22	26	30	21	130	26.0
		96	106	89	88	88	223	
						$X^2 = 4,349$		

ตารางที่ 29 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของการจัดการทดลองแบบแฟกตอเรียล โดยมี 3 ปัจจัย (3x3x2)

Source Of Variation	d.f.	SS	MS	F 5%	F 1%
Replication	r-1=4	19.111	4.7775	0.06	7.71
Factor A(M)	a-1=1	0.4	0.4		
Error (a)	(r-1)(a-1)=4	27.6	6.9		
Factor B(P)	b-1=2	5894.955	2947.4775	577.32**	
Factor AxB	(a-1)(b-1)=2	8.467	4.2335	0.83	
Error (b)	a(r-1)(b-1)=16	81.687	5.1054		
Factor C(H)	c-1=2	15.089	7.5445	0.32	
AxC	(a-1)(c-1)=2	20.066	10.0330	0.43	
BxC	(b-1)(c-1)=4	93.045	23.2612	0.99	
AxBxC	(a-1)(b-1)(c-1)=4	36.858	9.2145	0.39	
Error(c)	ab(r-1)(c-1)=48	1127.611	23.4919		
Total	89	7324.889			

ตารางที่ 29 (ต่อ)

C.V. (a)	=	16.53 %
C.V. (b)	=	14.22 %
C.V. (c)	=	30.50 %

หมายเหตุ

A (M) = สูตรอาหาร

B (P) = วิธีการตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ

C = ขนาดของหน่อ

H = ความสูงของหน่อ

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากผลการวิจัยวิธีการที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์กล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่อง โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่กระทำในห้องปฏิบัติการรวมระยะเวลาทั้งสิ้น 31 สัปดาห์หรือประมาณ 7 เดือน ตลอดเวลาที่ได้ทำการขยายพันธุ์อยู่ในห้องปฏิบัติการนั้น ได้ทำการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อกล้วย ประมาณสัปดาห์ที่ 4 ภายหลังจากเริ่มปฏิบัติการครั้งแรก หรือหลังจากทำการตัดแบ่งเนื้อเยื่อเพื่อเปลี่ยนอาหารใหม่ รวมช่วงระยะเวลาที่ได้ทำการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารใหม่ 7 ครั้ง ผลที่ได้จากการบันทึกการเปลี่ยนแปลงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ จากภายนอกขวดเพาะเลี้ยงทุกสัปดาห์ ตั้งแต่เริ่มปฏิบัติการจนกระทั่งสิ้นสุดนั้น สามารถวิจารณ์ผลที่เกิดขึ้นในด้านต่างๆ ตามหัวข้อซึ่งได้นำมาวิเคราะห์ผลรวม 6 ด้าน ดังนี้คือ

1. ลักษณะเด่นของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่เปลี่ยนแปลงไป

ผลที่ได้จากการวิเคราะห์ปรากฏว่า การเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ จะเจริญพัฒนาแตกต่างกันรวม 3 ระยะคือ สัปดาห์แรก สัปดาห์ที่ 2 และสัปดาห์ที่ 3 หลังจากเริ่มปฏิบัติการครั้งแรก หรือหลังจากการตัดแบ่งเนื้อเยื่อเพื่อเปลี่ยนอาหารใหม่ แต่ละช่วงสัปดาห์ดังกล่าว ได้สังเกตการเปลี่ยนแปลงรวม 8 ครั้ง ซึ่งการเจริญพัฒนามีลักษณะเป็นไปในทำนองเดียวกัน สามารถสรุปภาพรวมได้ดังนี้คือ

สัปดาห์แรก เป็นการสังเกตภายหลังจากที่ได้เริ่มปฏิบัติการ หรือหลังจากทำการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร ซึ่งได้แก่สัปดาห์ที่ 1, 5, 9, 13, 17, 20, 25 และ 28 ตามลำดับ การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อในแต่ละสัปดาห์ดังกล่าวนี้ มีการเปลี่ยนแปลงจากเดิมเพียงเล็กน้อย โดยชิ้นส่วนอาจจะขยายขนาดบวมพองเพิ่มขึ้น สีของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ เริ่มเปลี่ยนแปลงเป็นสีเขียวอ่อนในระยะแรกคือ ประมาณสัปดาห์ที่ 1 และ 5 ในระยะนี้ยังไม่ค่อยมีการแตกตาปรากฏให้เห็น จนกระทั่งประมาณสัปดาห์ที่ 9

การแตกตายอดและตาข้างจึงเริ่มปรากฏให้เห็นชัดเจนขึ้น โดยเฉพาะชิ้นส่วนเนื้อเยื่อซึ่งเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ I และ II แต่ชิ้นส่วนซึ่งเลี้ยงบนอาหารสูตร III ไม่มีการแตกตาปรากฏให้เห็น ทั้งนี้เพราะในอาหารสูตรที่ I และ II มีส่วนผสมของฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนิน (คือไคเนติน และ BA) ซึ่งมีบทบาทด้านการส่งเสริมให้เกิดการแบ่งเซลล์ ขยายขนาดของเซลล์ ช่วยพัฒนาตายอดหรือทำให้เกิดหน่อเพิ่มขึ้น (Murashige, 1974; Gupta, 1986) ดังนั้นเมื่อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อได้รับอาหาร และถูกกระตุ้นด้วยฮอร์โมนดังกล่าว จึงเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงชิ้นส่วน ทั้งด้านขยายขนาดและการแตกตาเพื่อเกิดหน่อเล็กๆเพิ่มขึ้น สำหรับชิ้นส่วนซึ่งเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ III ไม่มีการเจริญพัฒนาของเนื้อเยื่อหรือไม่มีการแตกตาปรากฏให้เห็นนั้น น่าจะเป็นเพราะอาหารสูตรที่ III มีส่วนผสมของ IBA ร่วมอยู่ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สาร IBA เป็นฮอร์โมนซึ่งอยู่ในกลุ่มออกซิน มีบทบาทหน้าที่ในด้านควบคุมการเจริญเติบโต ทั้งด้านการแบ่งเซลล์และขยายขนาดของเซลล์ เป็นฮอร์โมนซึ่งมีคุณสมบัติเหมาะสมสำหรับใช้ในการเร่งราก (กฤษณา, 2537) จากสมบัติของฮอร์โมนดังกล่าว จึงมีผลทำให้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่เลี้ยงบนอาหารสูตรที่ III ไม่เจริญพัฒนาเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น แต่ยังสามารถทรงตัวอยู่ได้ไม่ตายไป เพราะชิ้นส่วนเนื้อเยื่อยังคงได้รับสารอาหารส่วนอื่นอยู่

ในช่วงระยะเวลาตั้งแต่สัปดาห์ที่ 9 จนกระทั่งถึงสัปดาห์ที่ 28 การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ได้เปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นทุกระยะ โดยมีการแตกตาปรากฏให้เห็นชัดเจนขึ้น จนสามารถนับปริมาณได้ 1-7 ตา นอกจากนั้นยังชูหน่อสูงเพิ่มขึ้นพร้อมกับเริ่มมีใบเกิดขึ้นด้วย ลักษณะดังกล่าวนี้อาจเป็นเพราะ เมื่อระยะเวลายิ่งผ่านไปมากขึ้น ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อได้สะสมอาหารไว้มากขึ้น และอายุของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อก็มากขึ้นตามลำดับ พัฒนาการเกี่ยวกับการแตกตาใหม่หรือเกิดใบใหม่ จึงปรากฏให้เห็นโดยมีพัฒนาการเพิ่มขึ้นตามลำดับ

สัปดาห์ที่ 2 ภายหลังจากเริ่มปฏิบัติการ หรือหลังจากทำการตัดแบ่ง

เปลี่ยนอาหารซึ่งได้แก่สัปดาห์ที่ 3, 6, 10, 14, 18, 21, 25, และ 30 ตามลำดับ การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ในแต่ละสัปดาห์ดังกล่าวนี้ มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นมากกว่าสัปดาห์แรกอย่างเห็นได้ชัดเจน หรืออาจกล่าวได้ว่ามีการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงมาก เพราะการแตกหน่อแตกตาซึ่งเริ่มก่อตัวขึ้นในสัปดาห์แรกนั้น ได้เจริญพัฒนาเติบโตชูหน่อสูงขึ้น บางตัวอย่างหน่อสูงเกือบถึงปากขวด (5-7 เซนติเมตร) นอกจากนั้นยังมีการแตกใบประมาณ 1-3 ใบ มีทั้งขนาดเล็กขนาดใหญ่ยาว 1-3 เซนติเมตร และมีหน่อประมาณ 1-3 หน่อต่อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเดิม 1 ชิ้น การที่ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อกล้วยเล็กๆ เจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นแตกต่างจากสัปดาห์แรกมาก น่าจะเป็นเพราะเมื่อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อได้มีการขยายขนาด แตกตา แตกหน่อเล็กๆเกิดขึ้นในสัปดาห์แรก ระยะนี้จึงเป็นช่วงของการเจริญพัฒนาต่อเนื่อง พร้อมทั้งการได้รับอาหารมากขึ้น มีสภาพแวดล้อมเหมาะสม การเจริญพัฒนาแตกหน่อแตกใบจึงเป็นไปอย่างรวดเร็ว ซึ่งสอดคล้องกับที่ Skoog และ Miller (1975) ได้กล่าวไว้ว่า การที่ปลายยอดจะพัฒนาเป็นต้นได้นั้น ขึ้นอยู่กับความสมดุลระหว่างออกซินและไซโตไคนิน โดยอาหารที่มีไซโตไคนินระดับความเข้มข้นสูง และออกซินมีระดับความเข้มข้นต่ำ จะส่งเสริมการเจริญส่วนยอด (Murashige, 1974; Szwevkowska, 1974) ทั้งนี้เนื่องจากไซโตไคนินมีผลต่อการขยายขนาดของเซลล์ ช่วยการพัฒนาตายอด นอกจากการมีสูตรอาหารที่เหมาะสมแล้ว แสงก็เป็นปัจจัยที่สำคัญอีกประการหนึ่ง ที่มีส่วนชักนำให้เกิดยอด เพราะแสงมีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการพัฒนา เป็นรูปร่างลักษณะของพืชทั้งการเกิดต้นและราก (Murashige, 1974, 1977) ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า สัดส่วนและปริมาณระหว่างสารสองกลุ่มคือ ไซโตไคนินต่อออกซิน (C/A) มีความเหมาะสม จึงจะทำให้การเจริญเติบโตพัฒนาของเนื้อเยื่อเป็นหน่อเป็นต้นอย่างรวดเร็ว เพราะถ้าสัดส่วนไม่เหมาะสม จะทำให้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกลายเป็นก้อนแคลลัสแข็ง หรือยังคงสภาพเดิมอยู่ได้โดยไม่เปลี่ยนแปลงสภาพ แต่หยุดการเจริญพัฒนา หรือถูกยับยั้งมิให้เจริญพัฒนาต่อไป ลักษณะเช่นนี้ Skoog และ

Miller (1975) กล่าวว่า พบได้เมื่อปริมาณความเข้มข้นของไคเนติน มากขึ้นถึง 10 มิลลิกรัมต่อลิตร (จากการทดลองใช้ไคเนตินระหว่าง 0.2-10 มิลลิกรัมต่อลิตร)

สำหรับชิ้นส่วนเนื้อเยื่อซึ่งเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ III จะพบว่ามีลักษณะเป็นแคลลัสเกิดขึ้นมาก โดยในสัปดาห์แรกๆจะเริ่มเกิดสีดำ บริเวณฐานของชิ้นส่วนซึ่งฝังอยู่ในอาหาร หลังจากนั้นสีดำค่อยๆขยายตัวเพิ่มขึ้นห่อหุ้มชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ พร้อมกับการเป็นแคลลัสเกิดขึ้น จึงมีผลทำให้ชิ้นส่วนซึ่งเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ III ไม่เจริญพัฒนาแตกตาแตกหน่อเหมือนกับการเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ I และ II การมีสีดำเกิดขึ้นที่ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อนี้น่าจะเป็นเพราะปกติในเนื้อเยื่อกล้วยมีสารประกอบฟีโนลิก ซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการสร้างสลายของเซลล์ สารนี้มีความสำคัญหลายประการ แต่ที่สำคัญประการหนึ่งคือทำให้เกิดสีน้ำตาลในผักผลไม้ที่ถูกกระทบกระเทือน (จริงแท้ และอัญชลี, 2537) และถ้ามีปรากฏในเนื้อเยื่อกล้วย แล้วถูกออกซิไดซ์อย่างรวดเร็ว จะทำให้เนื้อเยื่อนั้นตายได้ วิธีป้องกันการออกซิไดซ์ของสารนี้คือ การใช้กรดซิตริก และกรด ascorbic และ activated charcoal ใส่เพิ่มเข้าไปในอาหาร เช่นจากการรายงานผลการวิจัยของ Gupta (1986) กล่าวว่า ในการนึ่งอาหารด้วยหม้อนึ่งกรด ascorbic จะแสดงผลให้เห็นมาก แต่ถ้าใช้ปริมาณ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร จะช่วยป้องกันการออกซิไดซ์ได้

สัปดาห์ที่ 3 หลังจากเริ่มปฏิบัติการ หรือหลังจากทำการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหาร ได้แก่สัปดาห์ที่ 4, 7, 11, 15, 19, 22, 26, และ 31 ตามลำดับ ในระยะนี้การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ส่วนใหญ่เปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นจากสัปดาห์ก่อนเพียงเล็กน้อย บางตัวอย่างมีลักษณะเกือบคงที่หรือชะงักการเจริญพัฒนา ลักษณะดังกล่าวนี้คล้ายคลึงกันทุกขนาด ทุกวิธีการ และทั้งสองสูตรอาหารคือสูตรที่ I และ II ยกเว้นสูตรที่ III ซึ่งเป็นแคลลัสไม่มีการเจริญพัฒนา สาเหตุที่ในระยะนี้การเจริญพัฒนามีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย อาจเนื่องจากเป็นลักษณะทางกายภาพของพืชประการหนึ่ง เพราะเมื่อมีการแบ่งเซลล์ขยายขนาดเพิ่มขึ้นสูงสุดแล้ว ต่อไปก็จะมีการเจริญ

พัฒนาที่ลดลงตามลำดับ นอกจากนั้นปริมาณอาหารที่มีอยู่อาจเหลือน้อยลง ทำให้เนื้อเยื่อหน่อกล้วยนำมาใช้ประโยชน์ได้น้อยลงตามไปด้วย แม้จะยังคงมีสภาพแวดล้อมอื่นๆคงที่ เช่น อุณหภูมิ แสง สำหรับชิ้นส่วนซึ่งเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ III ปรากฏว่ากลายเป็นแคลลัสห่อหุ้มชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมากขึ้น จึงไม่มีการแตกตาแตกหน่อเกิดใบแต่ประการใด

ดังนั้น ในการวิจัยครั้งนี้จึงสรุปผลการทดลองสำหรับการเลี้ยงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ บนอาหารสูตรที่ III ได้ว่า การใช้สาร IBA ซึ่งเป็นฮอร์โมนในกลุ่มออกซินนั้น ถ้าใช้ในปริมาณ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ผสมในอาหารสูตร MS พร้อมกับเพิ่มสารไคเนติน อีก 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนิน เพื่อเร่งการขยายเซลล์ เพิ่มปริมาณการแตกตายอด ก็ไม่ส่งผลให้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเจริญพัฒนา แตกตาแตกหน่อหรือเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ IBA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโต ส่วนใหญ่ใช้เป็นสารสำหรับเร่งการเกิดราก แต่การที่หน่อกล้วยยังไม่เกิดรากนั้น อาจเป็นเพราะมีสารไคเนตินมีส่วนยับยั้งอยู่ นั่นคือ ทั้งสารไคเนตินและ IBA ซึ่งผสมในอาหารสูตร MS ปริมาณและอัตราส่วนเดียวกันคือ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงมีส่วนช่วยยับยั้งซึ่งกันและกัน โดยทำให้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อไม่เจริญพัฒนาเป็นหน่อ แตกตาแตกใบ หรือมีรากเกิดขึ้น

2. ขนาดของหน่อกล้วยที่นำมาใช้ปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

จากการที่นำหน่อกล้วยสูง 3 ขนาดคือ 20, 50 และ 70 เซนติเมตร มาทำการเพาะเลี้ยงเพื่อขยายพันธุ์ ด้วยวิธีการตัดชิ้นส่วนแตกต่างกัน 3 วิธีการ และเลี้ยงบนอาหารแตกต่างกัน 3 สูตรนั้น ผลการวิจัยปรากฏว่า ขนาดความสูงของหน่อกล้วยที่นำมาใช้ปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ไม่ส่งผลให้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมีการเปลี่ยนแปลงหรือการเจริญพัฒนาของหน่อแตกต่างกันชัดเจน ดังจะเห็นว่า จากตารางที่ 4, 5, 6, 7, 8 และ 9 ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ในสัปดาห์แรก สัปดาห์ที่ 2 และสัปดาห์ที่ 3 หลังจากเริ่มปฏิบัติการ หรือหลังจากการตัดแบ่งเนื้อเยื่อเพื่อเลี้ยงบนอาหาร

ใหม่ปรากฏว่า ค่าเฉลี่ยในด้านความสูง ความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อทั้ง 3 ขนาด (ขนาด 20, 50 และ 70 เซนติเมตร) ไม่มีความแตกต่างกันมากนัก เห็นได้จากค่าเฉลี่ยด้านความสูงในสัปดาห์แรกสูงระหว่าง 0.9-2.2, 1.1-2.1 และ 0.9-1.8 เซนติเมตร โดยมีค่าเฉลี่ยด้านความสูงทั้ง 3 ขนาดระหว่าง 1.1-2.2 เซนติเมตร ส่วนความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อทั้ง3 ขนาด มีค่าเฉลี่ยระหว่าง 1-1.8, 1.1-1.9 และ 0.9-1.8 เซนติเมตร โดยมีค่าเฉลี่ยด้านความกว้างทั้ง 3 ขนาดระหว่าง 1-1.8 เซนติเมตร

สำหรับสัปดาห์ที่ 2 และสัปดาห์ที่ 3 ก็เป็นไปในทำนองเดียวกัน กล่าวคือ มีความสูงและความกว้างเพิ่มขึ้นจากสัปดาห์แรกบ้างเล็กน้อย เมื่อพิจารณาจากค่าเฉลี่ย ค่าเฉลี่ยรวม และค่าน้ำหนัก โดยค่าเฉลี่ยรวมด้านความสูงเพิ่มขึ้นระหว่าง 1.3-3.2 เซนติเมตร ความกว้างเพิ่มขึ้นระหว่าง 1-1.9 เซนติเมตร ในสัปดาห์ที่ 3 ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า การเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ระหว่างการนำหน่อกล้วยที่มีความสูงต่างกัน 3 ขนาด คือ 20, 50 และ 70 เซนติเมตร มาทำการเพาะเลี้ยงเพื่อขยายพันธุ์ ด้วยวิธีการตัดชิ้นส่วนแตกต่างกัน และเลี้ยงบนสูตรอาหารต่างกัน ไม่ส่งผลให้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงแตกต่างกันอย่างเด่นชัด หรืออาจกล่าวได้ว่ามีการเปลี่ยนแปลงคล้ายคลึงกัน แต่ถ้าพิจารณาลักษณะการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อระหว่างสัปดาห์ที่ 1, 2 และ 3 จะมีลักษณะการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะในด้านความสูง โดยในสัปดาห์แรกมีความสูงเฉลี่ยระหว่าง 1.1-2.2 เซนติเมตร หรือเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 3.4) ในสัปดาห์ที่ 2 เพิ่มขึ้นระหว่าง 1.3-3.2 เซนติเมตร หรือเพิ่มขึ้นในระดับมาก (ค่าน้ำหนัก 4.2) ในสัปดาห์ที่ 3 เพิ่มขึ้นระหว่าง 1.5-4.0 เซนติเมตร หรือเพิ่มขึ้นในระดับมากที่สุด (ค่าน้ำหนัก 4.9) ส่วนความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ มีขนาดใกล้เคียงกันคือ ในสัปดาห์ที่ 1,2 และ 3 มีความกว้างเฉลี่ยรวมระหว่าง 1-1.8, 1-1.9 และ 1-1.9 เซนติเมตรตามลำดับ ซึ่งมีค่า

น้ำหนักเฉลี่ยรวมในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2.6, 2.5 และ 2.8 ตามลำดับ)

การที่ขนาดของหน่อเดิม ซึ่งมีความแตกต่างกันในด้านความสูง แต่ไม่ส่งผลให้การเจริญเติบโต และการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อแตกต่างกันอาจเป็นเพราะ

1. อายุของหน่อเดิมมีความใกล้เคียงกัน ไม่แตกต่างกันมากนัก

2. ความสูงของหน่อเดิมระหว่าง 20-70 เซนติเมตร สามารถนำมาใช้ขยายพันธุ์ได้เหมือนกัน

3. วิธีการตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหน่อกล้วยสำหรับเลี้ยงบนอาหาร

ในการตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหน่อกล้วยสำหรับเลี้ยงบนอาหารครั้งนี้ ได้จำแนกวิธีการตัดแบ่งหน่อเดิม เป็น 3 วิธีการคือ วิธีการที่ 1 (TP) วิธีการที่ 2 (TPp) และวิธีการที่ 3 (TX) โดยใช้วิธีปฏิบัติการเดียวกันกับหน่อทั้ง 3 ขนาด (20, 50 และ 70 เซนติเมตร) เลี้ยงบนอาหาร 3 สูตร เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงด้านความเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ในตารางที่ 10, 11, 12, 13, 14 และ 15 ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อในสัปดาห์แรก สัปดาห์ที่ 2 และ สัปดาห์ที่ 3 หลังจากเริ่มปฏิบัติการ หรือหลังจากการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ เพื่อเลี้ยงบนอาหารใหม่ ปรากฏว่า ค่าเฉลี่ยในด้านความสูงแต่ละวิธีการที่ตัดชิ้นส่วน มีค่าใกล้เคียงกัน โดยในสัปดาห์แรกชิ้นส่วนหรือหน่อมีความสูงระหว่าง 0.8-1.6, 0.9-1.9 และ 1.1-1.8 เซนติเมตร ในวิธีการตัดชิ้นส่วนที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ โดยมีค่าเฉลี่ยรวมระหว่าง 0.9-1.8 เซนติเมตร ส่วนความกว้างก็เป็นไปในทำนองเดียวกันคือ ชิ้นส่วนกว้างเฉลี่ย 0.9-1.3, 1-1.9 และ 1-1.5 เซนติเมตรตามลำดับ โดยมีความกว้างเฉลี่ยรวม 0.8-1.6 เซนติเมตร

สำหรับสัปดาห์ที่ 2 และ 3 ก็เป็นไปในทำนองเดียวกัน กล่าวคือ เมื่อพิจารณาจากความสูงและความกว้าง ในแต่ละวิธีการตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ไม่ค่อยมีความแตกต่างกัน

มากนัก แต่เมื่อพิจารณาแต่ละช่วงสัปดาห์ที่ทำการเพาะเลี้ยง ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมีความเจริญพัฒนาแตกต่างกันมากขึ้น โดยเฉพาะในด้านความสูง เห็นได้จากในสัปดาห์แรก สัปดาห์ที่ 2 และสัปดาห์ที่ 3 มีความสูงเฉลี่ยรวมทั้ง 3 วิธีการตัดชิ้นส่วน ระหว่าง 0.9-1.8, 1.2-2.4 และ 1.2-3.6 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนความกว้างมีขนาดเฉลี่ยรวมใกล้เคียงกันคือระหว่าง 0.8-1.6, 1.2-1.9 และ 1.2-2.4 เซนติเมตร ตามลำดับ และถ้าพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักเฉลี่ยรวมปรากฏว่า ในสัปดาห์แรก สัปดาห์ที่ 2 และสัปดาห์ที่ 3 มีความสูงในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2.6) มาก (ค่าน้ำหนัก 3.6) และมาก (ค่าน้ำหนัก 4.4) ตามลำดับ สำหรับการเปลี่ยนแปลงด้านความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ในสัปดาห์ที่ 1 และ 2 มีค่าเฉลี่ยรวมเท่ากันคือค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2.6) แต่ในสัปดาห์ที่ 3 มีค่ามาก (ค่าน้ำหนัก 3.6)

การที่ค่าความสูงและความกว้างของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ มีค่าใกล้เคียงกันในแต่ละวิธีการตัดชิ้นส่วนในช่วงสัปดาห์เดียวกัน ชี้ให้เห็นว่าวิธีการตัดชิ้นส่วนมิได้ส่งผลให้เนื้อเยื่อเปลี่ยนแปลงเจริญพัฒนาแตกต่างกัน แต่การเปลี่ยนแปลงหรือเจริญพัฒนา ของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ เกิดจากช่วงระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นหลังจากเริ่มปฏิบัติการ หรือภายหลังการตัดแบ่งมากกว่า เพราะเมื่อชิ้นส่วนถูกตัดแบ่งและได้รับอาหารใหม่ เซลล์ต่างๆจะถูกกระตุ้นทำให้นำอาหารไปใช้ในการขยายเซลล์และแบ่งเซลล์มากขึ้น และเมื่อชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมีขนาดใหญ่หรือหน่อมีขนาดใหญ่ขึ้น ความต้องการอาหารย่อมมากขึ้น จึงส่งผลให้อาหารถูกนำไปใช้สร้างการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว การเจริญเติบโตพัฒนาของชิ้นส่วนหรือหน่อจึงสูงเพิ่มขึ้นมากในสัปดาห์ที่ 2 และ 3 สำหรับด้านความกว้างของชิ้นส่วนหรือหน่อ ไม่ขยายขนาดเพิ่มมากขึ้น น่าจะเป็นเพราะ เมื่อชิ้นส่วนหรือหน่อได้เปลี่ยนแปลงพัฒนาถึงจุดหนึ่งแล้ว จะเริ่มเปลี่ยนแปลงช้าลงหรือคงที่เท่านั้น

4. สูตรอาหารที่นำมาใช้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย

ในการวิจัยครั้งนี้ ได้ทดลองใช้อาหาร 3 สูตร ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่อง แต่ละสูตรใช้สูตรอาหาร MS ซึ่งเป็นสูตรอาหารที่ เบญจมาศ (2534) กล่าวไว้ว่า เป็นสูตรอาหารที่ได้รับความสำเร็จ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยมากเป็นพื้นฐาน แล้วทำการเติมฮอร์โมนในกลุ่มออกซินและไซโตไคนิน ในอัตราส่วนแตกต่างกันดังนี้คือ

สูตรที่ I MS + น้ำมะพร้าว 15 % + BA 5 มก./ลิตร

สูตรที่ II MS + Kn 2.5 มก./ลิตร + BA 2.5 มก./ลิตร

สูตรที่ III MS + Kn 2.5 มก./ลิตร + IBA 2.5 มก./ลิตร

ผลที่ได้จากการวิจัยปรากฏว่า ถ้าพิจารณาการเปลี่ยนแปลง ด้านการเจริญพัฒนาเกี่ยวกับความสูงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อกล้วย ในสัปดาห์ที่ 1,2 และ 3 หลังจากเริ่มปฏิบัติการ หรือหลังจากการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเพื่อเลี้ยงบนอาหารใหม่ จากตารางที่ 16, 17, 18, 19, 20 และ 21 พบว่าค่าเฉลี่ยด้านความสูงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ไม่ค่อยมีความแตกต่างกันทั้งระหว่างสูตรอาหาร ในวิธีการตัดชิ้นส่วนเดียวกัน หรือสูตรอาหารเดียวกัน แต่เมื่อวิธีการตัดชิ้นส่วนแตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น ในสัปดาห์แรกหลังจากเริ่มปฏิบัติการ หรือหลังจากการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเพื่อเลี้ยงบนอาหารใหม่ ความสูงเฉลี่ยของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อที่เลี้ยงบนสูตรอาหารที่ I, II และ III ในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 1 (TP) มีค่าระหว่าง 0.8-1.6, 0.9-1.6 และ 1-1.7 เซนติเมตร ตามลำดับ ส่วนวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 2 (TPp) มีความสูงเฉลี่ยระหว่าง 0.8-1.7, 0.8-1.8 และ 0.8-2 เซนติเมตร ในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 3 (TX) มีความสูงเฉลี่ยระหว่าง 1-2, 1.1-1.9 และ 0.8-1.7 เซนติเมตร ในการเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ I, II และ III ตามลำดับ สำหรับในสัปดาห์ที่ 2 และ 3 หลังจากเริ่มปฏิบัติการ หรือหลังจากการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเพื่อเลี้ยงบนอาหารใหม่ ก็มีลักษณะ

การเจริญพัฒนาเป็นไปในทำนองเดียวกันคือ ความสูงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ไม่ค่อยมีความแตกต่างกัน เมื่อเลี้ยงบนอาหารทั้ง 3 สูตร หรืออาหารที่ใช้เลี้ยงสูตรเดียวกันแต่วิธีการตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อแตกต่างกัน

แต่ถ้าพิจารณาด้านความสูงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ ระหว่างสูตรอาหารเดียวกัน เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 1, 2 และ 3 สัปดาห์ หลังจากเริ่มปฏิบัติการ หรือหลังจากการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเพื่อเปลี่ยนอาหารใหม่ จะมีความแตกต่างกัน โดยความสูงของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อในสัปดาห์ที่ 2 จะเพิ่มขึ้นมากกว่าสัปดาห์ที่ 1 และในสัปดาห์ที่ 3 จะสูงเพิ่มขึ้นมากกว่าสัปดาห์ที่ 2 อย่างเห็นได้ชัดเจน คือในสัปดาห์แรกชิ้นส่วนหรือหน่อ จะมีความสูงเฉลี่ยรวมทั้ง 3 วิธีการตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ สำหรับอาหารสูตรที่ I คือ 0.9-1.8 เซนติเมตร ในสัปดาห์ที่ 2 เพิ่มขึ้นเป็น 1-2 เซนติเมตร และสัปดาห์ที่ 3 เพิ่มเป็น 1.5-4.2 เซนติเมตร อาหารสูตรที่ II ในสัปดาห์แรกมีความสูงเฉลี่ยรวมระหว่าง 0.9-1.8 เซนติเมตร ในสัปดาห์ที่ 2 เพิ่มเป็น 1.0-3.1 เซนติเมตร และในสัปดาห์ที่ 3 เพิ่มเป็น 1.2-3.2 เซนติเมตร สำหรับอาหารสูตรที่ III การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อไม่เพิ่มขึ้น แม้ว่าเวลาจะเพิ่มขึ้น เห็นได้จากในสัปดาห์แรก มีค่าความสูงเฉลี่ยระหว่าง 0.9-1.8 เซนติเมตร ในสัปดาห์ที่ 2 มีค่า 0.7-1.2 เซนติเมตร และสัปดาห์ที่ 3 มีค่า 0.6-1.2 เซนติเมตร และถ้าพิจารณาจากการให้ค่าน้ำหนักปรากฏว่า ในอาหารสูตรที่ I ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ มีความสูงเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมาก (ค่าน้ำหนัก 2.7) ในสัปดาห์แรก ส่วนสัปดาห์ที่ 2 สูงเพิ่มขึ้นในระดับมาก (ค่าน้ำหนัก 3.6) และในสัปดาห์ที่ 3 สูงเพิ่มขึ้นในระดับมาก (ค่าน้ำหนัก 3.9) เช่นเดียวกัน อาหารสูตรที่ II ในสัปดาห์แรกและสัปดาห์ที่ 2 มีความสูงเพิ่มขึ้นในระดับค่อนข้างมากเหมือนกัน (ค่าน้ำหนัก 3.0 และ 3.2) ในสัปดาห์ที่ 3 มีความสูงเพิ่มขึ้นในระดับมาก (ค่าน้ำหนัก 3.7) ส่วนอาหารสูตรที่ III การเจริญพัฒนามีแนวโน้มลดลงคือ ในสัปดาห์แรกและสัปดาห์ที่ 2 มี

ความสูงเฉลี่ยรวมในระดับปานกลางเช่นกัน (ค่าน้ำหนัก 2.4 และ 1.8) แต่ในสัปดาห์ที่ 3 มีความสูงเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย (ค่าน้ำหนัก 1.3)

ผลที่เกิดขึ้นดังกล่าว ชี้ให้เห็นว่าอาหารแต่ละสูตรที่นำมาใช้ในการวิจัยครั้งนี้ มิได้ทำให้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมีการเปลี่ยนแปลงพัฒนา ในด้านความสูงแตกต่างกันชัดเจน โดยเฉพาะในอาหารสูตรที่ I และ II สาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะ ทั้งอาหารสูตรที่ I และ สูตรที่ II มีอาหารและสัดส่วนของฮอร์โมน สำหรับการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อคล้ายคลึงกัน จึงส่งผลให้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อกล้วย สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้เหมือนกัน หน่อกล้วยจึงมีความสูงในระดับใกล้เคียงกัน ดังนั้นการเพิ่มฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนินคือ BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าวร้อยละ 15 ลงในอาหารสูตร MS สำหรับอาหารสูตรที่ I จึงเป็นสัดส่วนที่คล้ายคลึงกับการเพิ่ม BA เพียง 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + ไคเนติน 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหารสูตรที่ II นั่นคือทั้ง BA และไคเนติน ต่างก็เป็นฮอร์โมนที่ช่วยกระตุ้น หรือเสริมให้เกิดการแตกตาแตกหน่อเพิ่มขึ้น ตามที่ Gupta (1986) ได้กล่าวไว้ว่า จำนวนหน่อจะเพิ่มขึ้นเมื่อ BA มีความเข้มข้นเป็น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และไคเนตินที่ระดับความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะให้หน่อมากกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับน้ำมะพร้าวก็มีส่วนช่วยในการเจริญพัฒนาด้วย ตามที่ ปาริชาต (2526) และ ระวี (2537) ได้กล่าวไว้ว่า เพราะน้ำมะพร้าวมีสารพวก myoinositol 1-3- diphenylurea และ leucoanthocyanin จึงมีความสามารถในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ ส่งเสริมให้มีคัพภะแคลลัส หรือเจริญเป็นต้นเล็กๆได้ (สุวรรณา, 2520) ดังนั้นการที่จะเลือกใช้น้ำมะพร้าว ซึ่งมีราคาถูกและหาได้ง่ายในท้องถิ่น หรือเลือกใช้สารไคเนติน ซึ่งมีราคาแพง จึงขึ้นอยู่กับผู้ประกอบการว่า ควรเลือกใช้สิ่งใดจึงจะมีความเหมาะสมมากกว่ากัน เมื่อพิจารณาในด้านต้นทุนการผลิต

สำหรับอาหารสูตรที่ III การที่ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อไม่เจริญ แตกตาแตกหน่อหรือใบ

เกิดขึ้น แต่กลายเป็นก้อนแคลลัสแข็ง แม้ว่าจะได้ทำการเพาะเลี้ยงไว้ถึงประมาณ 3 เดือน และทำการตัดแบ่งเนื้อเยื่อเปลี่ยนอาหารใหม่ 2 ครั้ง ชิ้นส่วนก็มิได้เปลี่ยนแปลงเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นแต่ประการใด ยังคงมีลักษณะเป็นก้อนแคลลัสแข็งเหมือนเดิม แต่ชิ้นส่วนเหล่านั้นยังคงสภาพเดิมอยู่ได้ จนกระทั่งนำไปตัดแบ่งเนื้อเยื่อและเปลี่ยนอาหารใหม่เป็นอาหารสูตรที่ I เพาะเลี้ยงต่อไป ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อนั้นจึงมีการเปลี่ยนแปลงเจริญพัฒนา แตกตาแตกหน่อต่อไปได้ ผลการวิจัยจึงสอดคล้องกับที่ Dore และคณะ (1983) ได้ศึกษาพบว่า ปลายยอดกล้วย Robusta ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมน้ำมะพร้าวร้อยละ 15 ร่วมกับ BA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร จะเจริญพัฒนาเป็นต้นเพียงต้นเดียว ถ้าไม่มีการตัดแบ่งปลายยอดนั้น แต่ถ้าได้มีการตัดแบ่งตาข้างซึ่งพักตัวอยู่ตามซอกใบ จะเจริญได้มากขึ้น สาเหตุที่อาหารสูตรที่ III ไม่ทำให้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ เกิดการเปลี่ยนแปลงเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นนั้น น่าจะเป็นเพราะมีสาร IBA ซึ่งเป็นฮอร์โมนในกลุ่มออกซิน มีคุณสมบัติด้านการควบคุมการเจริญเติบโตเหมาะสำหรับใช้เร่งการเกิดราก (กฤษณา, 2537) แต่การที่ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อยังไม่มีรากเกิดขึ้น เพราะไคเนตินจะมีส่วนยับยั้งการเกิดรากด้วย ถ้าผสมลงในอาหารอัตราส่วนสูง แต่จะทำให้เกิดรากได้ดีเมื่อผสมในอัตราที่เหมาะสม นั่นคือ ในอาหารสูตรที่ III ซึ่งมีอาหารสูตร MS เป็นพื้นฐาน เมื่อเพิ่มไคเนตินและ IBA ลงไปอีกอย่างละ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร นับว่าเป็นสัดส่วนที่ไม่เหมาะสม สำหรับกระตุ้นให้ชิ้นส่วนเจริญพัฒนาทั้งด้านการเจริญเป็นหน่อเล็กๆ หรือการเกิดราก แต่จะมีการฟอร์มตัวกลายเป็นแคลลัสเกิดขึ้น

5. ปริมาณการแตกตาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกล้วย

ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วย เมื่อนำชิ้นส่วนเนื้อเยื่อทั้งที่ได้ผ่าชิ้นส่วนออกเป็น 4 ชิ้น และที่ไม่ได้ผ่าชิ้นส่วนตามวิธีการที่กำหนดไว้ 3 วิธีในวัตถุประสงค์ วางบนอาหารเรียบร้อยแล้ว ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อจะมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น ตั้งแต่เริ่มปฏิบัติการครั้งแรก หรือภายหลังจากได้ทำการตัดแบ่งเนื้อเยื่อเพื่อเปลี่ยนอาหารใหม่ เพียง 1-2 วัน เห็นได้จากการที่ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อขยายขนาดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย หรือการมีสีเขียวอ่อนเกิดขึ้น ยิ่งระยะเวลาผ่านไป การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ก็เปลี่ยนแปลงเพิ่มมากขึ้น โดยมีการแตกตากลายเป็นหน่อกล้วยเล็กๆ พร้อมทั้งมีใบเกิดขึ้นตามลำดับ ในการพิจารณาตรวจนับปริมาณการแตกตา ของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อกล้วยปรากฏว่า ภายหลังจากเริ่มปฏิบัติการ หรือหลังจากการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ เพื่อเปลี่ยนอาหารใหม่ 1, 2 และ 3 สัปดาห์ แต่ละชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อ มีการแตกตาคล้ายคลึงกัน เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบหน่อทั้ง 3 ขนาด (20, 50 และ 70 เซนติเมตร) วิธีการตัดชิ้นส่วน ทั้ง 3 วิธี (TP, TPp และ TX) และสูตรอาหารจำนวน 2 สูตร (สูตรที่ I และสูตรที่ II) กล่าวคือ มีการแตกตาเพิ่มขึ้นเฉลี่ยรวม ในวิธีการตัดชิ้นส่วน วิธีที่ 1 (TP) ประมาณ 1-4 ตา วิธีที่ 2 (TPp) ประมาณ 1-3 ตา และวิธีที่ 3 (TX) ประมาณ 1-2 ตา ผลที่เกิดขึ้นเช่นนี้น่าจะเป็นเพราะ ในช่วงแรกประมาณ 1-3 เดือน ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 1 และ 2 (TP และ TPp) ยังไม่มีการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเพียงแต่ลอกกาบสีดำซึ่งเป็นส่วนที่เสียออก ในขั้นตอนการเปลี่ยนอาหารใหม่เท่านั้น โดยมีความแตกต่างจากวิธีที่ 3 (TX) ได้ทำการผ่าชิ้นส่วนออกเป็น 4 ชิ้น ตั้งแต่เริ่มปฏิบัติการครั้งแรก และได้ทำการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อทุกครั้ง ที่มีการเปลี่ยนอาหารใหม่ ดังนั้นจึงส่งผลให้การแตกตาในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 1 และ 2 (TP,TPp) มีค่าเฉลี่ยค่อนข้างมากกว่าวิธีที่ 3 (TX) เพราะการที่มิได้มีการตัดแบ่ง ตั้งแต่เริ่มปฏิบัติการครั้งแรก และในช่วงการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 1 และ 2 จึงคล้ายกับเป็นการสกัดกั้นควบคุมการ

แตกตาไว้ จนกระทั่งในช่วงระยะการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 3 จึงได้ทำการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ดังนั้นจึงส่งผลให้ปริมาณการแตกตา เพิ่มมากกว่าวิธีการที่ 3 (TX) สำหรับวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 3 (TX) จะเห็นว่าหลังจากทำการตัดแบ่งเนื้อเยื่อ เพื่อเปลี่ยนอาหารใหม่แต่ละครั้ง จะมีการแตกตาเพิ่มขึ้นเฉลี่ยเพียง 1-2 ตา เท่านั้น แต่ในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 1 และ 2 (TP, TPp) การแตกตาจะเพิ่มมากในช่วงสัปดาห์ที่ 9 และสัปดาห์ที่ 28 ซึ่งบางตัวอย่างชิ้นส่วนเนื้อเยื่อแต่ละชิ้น อาจแตกตาเพิ่มขึ้นเป็น 5-7 ตา แต่ถ้าพิจารณาอย่างละอียดจะพบว่า เป็นลักษณะของกลุ่มตามากกว่าการแตกเป็นหน่อเล็กๆ ซึ่งเจริญพัฒนาเป็นหน่อใหญ่และเป็นต้นอ่อนในภายหลัง จึงสอดคล้องกับที่ Dore และคณะ (1983) ได้กล่าวไว้ว่า ถ้าไม่มีการตัดแบ่งปลายยอด กล้วยจะเจริญเป็นต้นเพียงต้นเดียว แต่ถ้ามีการตัดแบ่ง ตาข้างที่พักอยู่ตามซอกใบ จะเจริญเพิ่มปริมาณได้มากขึ้น จากชิ้นส่วน 1 ชิ้น สามารถแตกตาเพิ่มปริมาณหน่อได้มากกว่า 35 หน่อ เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าวร้อยละ 15 และ BA 10 มิลลิกรัมต่อลิตร

6. อัตราการเพิ่มปริมาณหน่อกล้วยและการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ในการตรวจนับอัตราการเพิ่มปริมาณหน่อกล้วย ซึ่งแสดงผลในตารางที่ 23, 24 และ 25 จะเห็นว่าหน่อสูงขนาด 20, 50 และ 70 เซนติเมตร รวมทั้งอาหารสูตรที่ I และ II ไม่ได้มีผลทำให้ปริมาณหน่อที่เพิ่มขึ้นมีความแตกต่างกันมากนัก หรืออาจกล่าวได้ว่า มีอัตราการเพิ่มคล้ายคลึงกัน แต่ถ้าพิจารณาในด้านการตัดชิ้นส่วน ปรากฏว่ามีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดเจน ในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 1, 2 (TP, TPp) กับวิธีที่ 3 (TX) ตัวอย่างเช่น ในช่วงสัปดาห์ที่ 20-22 หรือช่วงการตัดแบ่งเนื้อเยื่อเพื่อเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 5 ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อซึ่งเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ I ในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ที่ 1 (TP) มีอัตราการเพิ่มเป็น 27, 24, และ 21 หน่อ จากหน่อเดิมเพียงหน่อเดียว (หน่อสูงขนาด 20, 50 และ 70 เซนติเมตร) ในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธี

ที่ 2 (TPp) มีอัตราการเพิ่มขึ้นใกล้เคียงกันคือ 21, 20 และ 23 หน่อ ส่วนในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 3 (TX) มีปริมาณการเพิ่มมากกว่าทั้งสองวิธีมากคือ เพิ่มขึ้นในอัตรา 63, 65 และ 61 หน่อตามลำดับ ถ้าคิดอัตราการเพิ่มเป็นช่วงๆ ตามระยะเวลาที่มีการตัดแบ่งเนื้อเยื่อเพื่อเปลี่ยนอาหารใหม่ ตั้งแต่เริ่มปฏิบัติการจนกระทั่งสิ้นสุดการวิจัยคือ ช่วงการตัดแบ่งเนื่อเยื่อครั้งที่ 2, 4, 5, และ 7 มีค่าเฉลี่ยรวมทั้ง 3 ขนาด และอาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อรวม 2 สูตร อัตราการเพิ่มปริมาณหน่อเมื่อคิดเป็นจำนวนเท่าของหน่อเดิม 1 หน่อคือ ในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 1 (TP) มีอัตราการเพิ่มเป็น 3:3:2:7 เท่า สำหรับวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 2 (TPp) ก็มีอัตราการเพิ่มเป็น 4:3:2:9 เท่า ส่วนวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 3 (TX) มีอัตราการเพิ่มเป็น 0:7:3:6 เท่า จะเห็นว่าในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 1 และ 2 (TP, TPp) นั้น ในช่วงการตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 2,4 และ 5 มีอัตราการเพิ่มใกล้เคียงกันคือประมาณ 2, 3 และ 4 เท่า แต่ในการตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 7 มีอัตราการเพิ่มขึ้นสูงมากคือ 7-9 เท่า ส่วนในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 3 (TX) อัตราการเพิ่มของหน่อมีแนวโน้มการเพิ่มมากน้อยเป็นช่วงๆคือ ในช่วงการตัดแบ่งเนื้อเยื่อครั้งที่ 4, 5 และ 7 มีอัตราการเพิ่มเป็น 7:3:6 เท่าตามลำดับ

ถ้าพิจารณาปริมาณการเพิ่มของหน่อจากหน่อเดิม 1 หน่อ จนกระทั่งสิ้นสุดการวิจัยนั้น จะเห็นว่า ขนาดของหน่อที่มีความสูงระดับ 20, 50 และ 70 เซนติเมตร และอาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อทั้งสูตร I, II ไม่ส่งผลให้ปริมาณการเพิ่มของหน่อแตกต่างกันมากนัก แต่วิธีการตัดชิ้นส่วนตั้งแต่เริ่มปฏิบัติการ คือการผ่าตัดชิ้นส่วนออกเป็น 4 ชิ้น กับการไม่ได้ผ่าตัดชิ้นส่วน หรือมาตัดแบ่งชิ้นส่วนภายหลัง (เริ่มตัดแบ่งในช่วงการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 3) จะส่งผลให้ปริมาณการเพิ่มของหน่อแตกต่างกันอย่างชัดเจน ตัวอย่างที่เห็นได้ชัดคือ ในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 1 และ 2 (TP, TPp) ในระยะเริ่มปฏิบัติการใช้ปลายยอดของหน่อเลี้ยงโดยไม่มีการผ่าตัดชิ้นส่วน แต่มาตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อใน

ช่วงการเปลี่ยนอาหารครั้งที่ 3 มีปริมาณการเพิ่มขึ้นจากหน่อเดิม 1 หน่อ ในระยะเวลาที่เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อประมาณ 7 เดือน ทำการเปลี่ยนอาหาร 7 ครั้ง ได้ปริมาณหน่อที่เพิ่มขึ้นตามวิธีการที่ 1 (TP) คือประมาณ 147 หน่อ และในวิธีการที่ 2 (TPp) ได้ปริมาณหน่อที่เพิ่มขึ้นเป็น 154 หน่อ แต่ในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 3 (TX) มีปริมาณหน่อเพิ่มขึ้นถึง 393 หน่อ จึงเป็นที่น่าสังเกตว่า ในการขยายพันธุ์กล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่อง เพื่อต้องการให้ได้ปริมาณเพิ่มขึ้นนั้น ควรตัดแบ่งเนื้อเยื่อตั้งแต่เริ่มปฏิบัติการ จะทำให้ได้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเดิม ซึ่งคล้ายกับได้ใช้หน่อเริ่มต้นปฏิบัติการถึง 4 หน่อ (ชิ้น) แต่ถ้าไม่มีการตัดแบ่งปลายยอด ด้วยการใช้เพาะเลี้ยงเพียง 1 ชิ้น แม้ว่าปริมาณการแตกตามองดูคล้ายกับมากกว่า แต่อัตราการเพิ่มปริมาณหน่อก็ยังคงได้น้อยกว่าวิธีการตัดแบ่งถึงประมาณ 3 เท่า

จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติ เมื่อใช้ผลของการเพิ่มปริมาณหน่อในสัปดาห์ที่ 17 มาวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวน การที่ขนาดความสูงของหน่อทั้ง 3 ระดับ (20, 50 และ 70 เซนติเมตร) สูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเนื้อเยื่อ 2 สูตร (สูตรที่ I และ II) และวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 1 และ 2 (TP, TPp) มีปริมาณหน่อเพิ่มขึ้นโดยเฉลี่ยใกล้เคียงกัน คือระหว่าง 8.8 - 12.2 หน่อ (เฉลี่ยประมาณ 10.2 หน่อ) และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ในวิธีการตัดชิ้นส่วนวิธีที่ 3 (TX) จะมีปริมาณหน่อเพิ่มขึ้นมากกว่าอย่างชัดเจน โดยเพิ่มขึ้นเฉลี่ยระหว่าง 24.6-30.2 หน่อ (เฉลี่ยประมาณ 27.3 หน่อ) หรือเพิ่มขึ้นเกือบประมาณ 3 เท่า ของวิธีที่ 1 และ 2 ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่า ระยะเวลาที่เพิ่มขึ้นจากสัปดาห์ที่ 17 ถึงสัปดาห์ที่ 31 ปริมาณหน่อที่เพิ่มขึ้นถ้าคิดเป็นจำนวนเท่าของหน่อเดิม มีอัตราการเพิ่มใกล้เคียงกันคือประมาณ 3 เท่า นั่นคือ ปริมาณหน่ออาจจะเพิ่มขึ้น แต่สัดส่วนของการเพิ่มยังคงมีอัตราใกล้เคียงกัน แม้จะเพิ่มระยะเวลาในการเลี้ยงมากขึ้นอีกประมาณ 1 เท่าก็ตาม

สรุป

ในการวิจัยเกี่ยวกับ วิธีการที่เหมาะสมในการขยายพันธุ์กล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่อง โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ได้นำหน่อกล้วยที่มีความสูงแตกต่างกัน 3 ระดับคือ 20, 50 และ 70 เซนติเมตร มาตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเพื่อทำการเพาะเลี้ยง ด้วยวิธีการที่แตกต่างกัน 3 วิธีการคือ วิธีที่ 1 (TP)ใช้ตายอด วิธีที่ 2 (TPp) ใช้ตายอดที่มีกาบหุ้ม และวิธีที่ 3 (TX) ตัดแบ่งตายอดเป็น 4 ชิ้น จากนั้นนำชิ้นส่วนที่ต้องการมาเพาะเลี้ยงบนอาหารซึ่งมีส่วนผสมและอัตราส่วนต่างกันรวม 3 สูตร แต่ละตัวอย่างกระทำซ้ำจำนวน 10 ซ้ำ ในระยะเริ่มแรกของการปฏิบัติการวิจัย จากหน่อกล้วยที่มีความสูง 3 ระดับ ทำการตัดแบ่งชิ้นส่วน 3 วิธีการ และเลี้ยงบนอาหาร 3 สูตร ซึ่งมีสูตรอาหาร MS เป็นพื้นฐาน รวมตัวอย่างทั้งหมดที่ใช้ในงานวิจัยเริ่มแรกคือ 270 ตัวอย่าง ใช้ระยะเวลาเพาะเลี้ยงอยู่ในห้องปฏิบัติการ 31 สัปดาห์ หรือประมาณ 7 เดือน (ตั้งแต่เดือนมกราคม - สิงหาคม 2537) และทุกระยะเวลาประมาณ 4 สัปดาห์ จะทำการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเพื่อเปลี่ยนอาหารใหม่ รวม 7 ครั้ง ผลการวิจัยสรุปได้ดังนี้คือ

1. ขนาดของหน่อกล้วยที่มีความสูงแตกต่างกัน 3 ระดับ ไม่ส่งผลให้การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อแตกต่างกัน

2. วิธีการตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อวิธีที่ 1 และ 2 (TP,TPp) คือการใช้ตายอดและการใช้ตายอดที่มีกาบหุ้มเพาะเลี้ยง โดยไม่ได้ผ่า 4 ชิ้น ในระยะเริ่มปฏิบัติการ มีการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อคล้ายคลึงกัน แต่ในการตัดชิ้นส่วนเนื้อเยื่อวิธีที่ 3 (TX) คือการตัดแบ่งตายอดเป็น 4 ชิ้น ตั้งแต่เริ่มปฏิบัติการ ลักษณะการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่ออาจจะคล้ายคลึงกับวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 แต่ปริมาณการเพิ่มของหน่อจะเพิ่มขึ้นแตกต่างจากวิธีที่ 1 และ 2 อย่างชัดเจน และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ .01 โดยมีค่าเฉลี่ยเพิ่มขึ้นมากกว่าประมาณ 3 เท่า นั่นคือ เมื่อสิ้นสุดการทดลองจึงปรากฏว่า ปริมาณหน่อที่เพิ่มขึ้นจากหน่อเดิม 1 หน่อ ในวิธีการที่ 1, 2 และ 3 (TP, TPp และ TX) คือ 147, 154 และ 393 หน่อ ตามลำดับ

3. สูตรอาหารที่นำมาใช้เลี้ยงจำนวน 3 สูตรนั้น สูตรที่ 1 และสูตรที่ 2 ไม่ส่งผลให้การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือหน่อแตกต่างกัน ดังนั้นการจะเลือกใช้สูตรอาหารใดทำการเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ จึงขึ้นอยู่กับความสะดวก การคิดต้นทุนการผลิต และความเหมาะสมต่อลักษณะงานของผู้ปฏิบัติงานด้านนี้ แต่สูตรอาหารที่ 3 ซึ่งมีฮอร์โมนในกลุ่มออกซินคือ IBA เป็นส่วนผสมอยู่ด้วย ไม่สามารถทำให้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อเจริญพัฒนาแตกหน่อแตกใบเพิ่มขึ้นได้ แต่จะมีลักษณะเป็นแคลลัสเกิดขึ้น

4. ลักษณะการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ ในสัปดาห์แรกของการปฏิบัติการหรือสัปดาห์แรกของการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารใหม่ จะเจริญเพิ่มขึ้นในระดับปานกลางถึงค่อนข้างมาก โดยชิ้นส่วนขยายขนาดเพิ่มขึ้น แต่ยังไม่มีการแตกใบ ส่วนการแตกหน่อก็ยังมีลักษณะเป็นตุ่มตาหรือหน่อขนาดเล็กมาก สำหรับสัปดาห์ที่ 2ของการปฏิบัติการ หรือสัปดาห์ที่ 2 ของการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารใหม่ เป็นช่วงที่ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมีการเจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นมากที่สุด โดยพัฒนากลายเป็นหน่อที่อวบอ้วนสมบูรณ์ พร้อมทั้งมีใบคลี่ออกชัดเจนประมาณ 1-3 ใบ ในขณะเดียวกันหน่อขนาดเล็กๆ ก็ยังคงเจริญพัฒนาต่อเนื่องกันไปด้วย ส่วนสัปดาห์ที่ 3 ของการปฏิบัติการหรือการตัดแบ่งเปลี่ยนอาหารใหม่ การเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่ออาจพัฒนาต่อเนื่องจากสัปดาห์ที่ 2 บ้างเล็กน้อย แต่หน่อขนาดใหญ่อาจชะงักการเจริญ หรือทรงตัวไม่เจริญพัฒนาเพิ่มขึ้นอีกต่อไป

5. ลักษณะการแตกตาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อ จากการวิจัยพบว่า ขนาดของหน่อและสูตรอาหาร ไม่ส่งผลให้ปริมาณการแตกตาแตกต่างกันมากนัก หรืออาจกล่าวได้ว่าชิ้นส่วนเนื้อเยื่อมีลักษณะการแตกตาคล้ายคลึงกัน แต่ถ้าพิจารณาจากวิธีการตัดชิ้นส่วนปรากฏว่า ในภาพรวมค่าเฉลี่ยของการแตกตาจะแตกต่างกันดังนี้คือ วิธีการที่ 1 (TP) จะมีการแตกตาเฉลี่ย 1-4 ตาต่อชิ้นส่วน วิธีการที่ 2 (TPp) มีการแตกตาเฉลี่ย 1-3 ตาต่อชิ้นส่วน และวิธีที่ 3 (TX) มีการแตกตา 1-2 ตาต่อชิ้นส่วนตามลำดับ

นั่นคือ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยน้ำว้าพันธุ์มะลิอ่อง สามารถใช้หน่อกล้วย

ที่มีความสูงระหว่าง 20 - 70 เซนติเมตร ตัดชิ้นส่วนโดยวิธีการผ่า 4 ชิ้น เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรที่ I และ II มีความเหมาะสมต่อการขยายพันธุ์มากที่สุด

อุปสรรคและข้อเสนอแนะ

ในการวิจัยครั้งนี้ มีอุปสรรคบ้างเล็กน้อยซึ่งอาจทำให้ข้อมูลคลาดเคลื่อนบ้างดังนี้คือ

1. ในการตัดแบ่งชิ้นส่วนเนื้อเยื่อหรือการเปลี่ยนอาหารใหม่ทุกครั้ง จำเป็นต้องใช้ผู้ปฏิบัติงานหลายคน เนื่องจากกลุ่มตัวอย่างมีขนาดใหญ่ปริมาณงานมาก ดังนั้นเทคนิคของแต่ละคน อาจทำให้ชิ้นส่วนเนื้อเยื่อที่ตัดแบ่งแต่ละชิ้น มีตาติดอยู่ไม่เหมือนกัน จึงส่งผลต่อการแตกตาแตกหน่อด้วย

2. ในการบันทึกผล ใช้วิธีสังเกตตรวจนับการเจริญพัฒนาของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อจากภายนอกขวด อาจทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนได้บ้าง

3. หน่อกล้วยซึ่งนำมาจากสวนเกษตรกร ไม่สามารถคัดเลือกหน่อที่ปราศจากโรคได้อย่างแท้จริง ทำให้ขณะเพาะเลี้ยงอยู่ในห้องปฏิบัติการ บางตัวอย่างเชื้อโรคเจริญพัฒนาขึ้น จึงต้องตัดทิ้งสูญเสียไป

ข้อเสนอแนะ

ในการทำวิจัยครั้งต่อไป อาจทดลองเปรียบเทียบเฉพาะชนิดของฮอร์โมนหรืออัตราส่วนที่ใช้ผสมในอาหารเพียงอย่างหนึ่งอย่างใด หรือวิจัยเฉพาะเทคนิคการตัดชิ้นส่วนโดยเฉพาะ และถ้าเป็นไปได้ควรใช้อุปกรณ์ที่ทำให้สามารถเห็นรายละเอียด การแตกตาแตกหน่อของชิ้นส่วนเนื้อเยื่อได้ดีขึ้น นอกจากนั้นเมื่อสิ้นสุดงานในห้องปฏิบัติการแล้ว งานนอกห้องปฏิบัติการ ตั้งแต่การนำออกจากขวดเพาะเลี้ยงเพื่อทำการเพาะชำในเรือนเพาะชำ ตลอดจนการปลูกในแปลง และการเพิ่มผลผลิตให้มีคุณภาพ ก็น่าจะได้วิจัยติดตามผลต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กฤษณา กฤษณพุกต์. 2537. **การเกิดรากและการใช้สารเร่งราก.** น. 90-93. *ใน.* เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพื้นฐาน, (เอกสารประกอบการฝึกอบรมทางวิชาการ) ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

กรีก นฤทุม, เกษม สุขสถาน, วิชัย ก่อประดิษฐ์สกุล, อิสรา สุขสถาน, รงรอง วิเศษสุวรรณ, สุภาพร กลีนคง และมณฑา สุริยะไชยากร. 2536. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอดอ้อยให้พัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์.** วิทยาสารเกษตรศาสตร์ (วิทย.) 27 (3) : 286-291.

ข่าวสารสถาบันวิจัยพืชสวน. 2536. **สถานการณ์กล้วยในตลาดโลกที่มีผลต่อการผลิตและส่งออกกล้วยของประเทศไทย.** ข่าวสารสถาบันวิจัยพืชสวน. 7 (1) : 8-11.

โครงการสมุนไพรเพื่อการพึ่งตนเอง. 2531. **กล้วยผลไม้ไทยๆสมุนไพรสารพัดประโยชน์.** บริษัทเอดิสัน เพรส โพรดักส์จำกัด, กรุงเทพฯ. 66 น.

จริงแท้ ศิริพานิช และอัญชลี กมลรัตนกุล. 2537. **สรีรวิทยาของผลิตผลและเทคโนโลยีหลังเก็บเกี่ยว.** เอกสารประกอบการฝึกอบรมเรื่องวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวทางพืชสวน. กรมการฝึกหัดครู สำนักคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติและมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม. 249 น.

นพรัตน์ บำรุงรักษ์. 2536. **พืชหลักปักษ์ใต้.** บริษัทปิรามิด, กรุงเทพฯ. 184 น.

เบญจมาศ ศิลาย้อย. 2534. **กล้วย.** บริษัทประชาชนจำกัด, กรุงเทพฯ. 289 น.

เบญจมาศ ศิลาย้อย และ O.L. Gamborg .2529. **การชักนำให้เกิดแคลลัสในกล้วย.** เอกสารวิชาการเกษตร. 4 : 181-185.

ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ, เผดิม ระติสุนทร, เสาวนีย์ สุพุทธธิธาดา, สุรินทร์ ปิยโชคณากุล, เลิศลักษณ์ เงินศิริ และอมรา ทองปาน. 2536. **การขยายพันธุ์พืชในมะเขือเทศโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.** วิทยาสารเกษตรศาสตร์ (วิทย.) 27 (3) : 269-277.

ประภาสินี รัตโนภาส. 2529. **เทคนิคการขยายพันธุ์กล้วยโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.** ปัญหาพิเศษ (พืชสวน). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 26 น.

ปาริชาต นุกูลการ. 2526. **ผลของสิ่งก่อกลายพันธุ์ต่อกล้วยหอมทองที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท (พืชสวน). มหาวิทยาลัยเกษตรศาตร์, กรุงเทพฯ. 65 น.

เผดิม ระติสุนทร, ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ, เสาวนีย์ สุพุทธธิธาดา, สุรินทร์ ปิยโชคณากุล และเลิศลักษณ์ เงินศิริ. 2536. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในข้าวพันธุ์ต่างๆ.** วิทยาสารเกษตรศาสตร์ (วิทย.) 27 (3) : 278-285.

พรทิพย์ ธนูทอง, บุญเรือน เพียรงาน และสุธาทิพย์ ฤกษ์วรชัย. 2529. **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนต่างๆของต้นมะเขือเทศ.** วารสารวิชาการเกษตร. 4 : 186-191.

พีรเดช ทองอำไพ. 2537. **ฮอร์โมนพืชและสารที่เกี่ยวข้อง.** น. 1-12. *ใน.* การฝึกอบรมการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชทางการเกษตร. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติร่วมกับกรมการฝึกหัดครู.

รวี เสรฐภักดี. 2537. **Cytokinins.** น. 36-54. *ใน.* เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขั้นพื้นฐาน, (เอกสารประกอบการฝึกอบรมทางวิชาการ). ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

ศิริลักษณ์ แก้วสุรลิขิต. 2533. **ผลของระดับความเข้มข้นของวุ้นและ Supporting agent ต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไข่ ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.** ปัญหาพิเศษ (พืชสวน). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 18 น.

ศรีสังวาลย์ ลายวิเศษกุล. 2533. **ผลของ P^H ต่อการเกิดหน่อของกล้วยไข่ของอาหารสังเคราะห์.** ปัญหาพิเศษ (พืชสวน) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 11 น.

สงบ โอฬารรัตน์มณี. 2536. **ประโยชน์และผลิตภัณฑ์จากกล้วย.** เทคโนโลยี (เอกสารเพื่อการเผยแพร่) 14 (3) : 14-49.

สอาด สุขารมย์. 2526. **การผลิตหัวย่อยของแกลดิโอลัสโดยการเพาะเลี้ยงช่อดอกอ่อน.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท (พืชสวน). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 104 น.

สิรนุช ลามศรีจันทร์ .2536. **การกลายพันธุ์ของพืช.** ห้างหุ้นส่วนจำกัดพับบลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ. 197 น.

สุภัทรา ศุภเมธี. 2533. **การชักนำกล้วยเกิดการกลายพันธุ์และคัดพันธุ์เพื่อทนเค็มโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท (พืชสวน) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 60 น.

สุภาพร แก้วสมพงษ์. 2532. **ผลของ 6 Benzylaminopurine ต่อการเกิดหน่อของกล้วยไข่บนอาหารสังเคราะห์.** ปัญหาพิเศษ (พืชสวน) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 15 น.

สุวรรณา สังสิทธยากร. 2520. **การขยายพันธุ์สับปะรด [Ananas comosus (L.) Mer.] โดยวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อ.** (เนื้อความย่อวิทยานิพนธ์) น. 52-53. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรดี สหวัชรินทร์. 2533. **เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ.** น. 1-14. *ใน.* เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขั้นพื้นฐาน (เอกสารประกอบการฝึกอบรมทางวิชาการ) ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

Arakawa, C. 1982. Tissue culture propagation of banana cultivar 'Santa Catarina'. pp. 36-37. (procedure and progress report). 13 th Annual Hawaii Banana Industry Association Conference. Hawaii. Resarch Extention Series No. 21

Bower, J.P. and C. Fraser. 1982. Shoot tip culture of Williams banana. Hort. Abstr. 52 p.

Brown, D.C.W., W.M. Leurg and T.A. Thorpe. 1977. Osmotic requirement for shoot formation in tobacco callus. physiol. plant. 46 : 36-41.

Cox, E.A., G. Stotzy. and R.D. Goos. 1960. *In vitro.* culture of *Musa bulbisiana* Colla embryos. Nature. 185 : 404-405.

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

Damasco, O.P. and R.C. Barba. 1984. *In vitro* culture of SABA banana (Musa sp. cv. SABA BBB). Phil, Agri. 67 : 351-358.

De Guzman, E.V., A.C. Decena. and E.M. Ubalde. 1980. Plantlet regeneration from unirradiated and irradisted banana shoot tip tissues cultured *in vitro*. Phil Agri. 63 : 140-146.

Dore, S.R., N.K.S. Rao. and E.K. Chacko. 1983. Tissue culture propagation of banana. Hort Science. 18 : 247-252.

Gupta, P. Prem. 1986. Eradication of mosaic disease and rapid clonal multiplication of banana and plantains through meristem tip culture. Plant Cell Tissue Organ Culture. 6 : 33-39.

Halling, M. 1965. Disease control through virus-free stock. Ann. Rev. Phytopath. 3 : 367-396.

Hwang, S.C. and W.H. Ko. 1986. Somaclonal variation *in vitro* of banana and its application for screening for resistance. to *Fusarium* wilt. pp. 151-156. *In* ACIAR Proceedings No. 21.

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

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

Kartha, K.K. 1981. Meristem culture and cryopreservation methods and application. pp. 181-211. *In* T.A. Thorpy (ed.). Plant Tissue Culture Methods and Application in Agriculture. Academic Press, Inc., London.

Krikorian, A.D. 1986. Callus and culture, somatic embryo genesis, androgenesis and related techniques for banana improvement. pp. 128-135. *In* ACIAR Proceedings No. 21.

Krikorian, A. D. and S. S. Cronauer. 1984. A septic culture techniques for banana and plantain improvement. Economic Botany. 38 : 322-332.

Kusey, W.E. and P.A. Hammer. 1980. *In vitro* propagation *gupsophila panniculata* L. " Bristol Fairy ". Hort Science. 15 (5) : 600-601.

Ma, S. S. and P. L. Huang. 1982. *In vitro* propagation of banana. Fifth International Congress of plant Tissue and cell Culture. Tokyo. International Association for Plant Tissue Culture. 258 p.

Murashige, T. 1974. Propagation through tissue culture. Ann. Rev. Plant Physiol. 25 : 135-166.

Murashige, T. 1977. Current status of plant cell and organ cultures. Hort Science. 12 (2) : 127-130.

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

Nakajima, T. 1985. Application of tissue culture to plant breeding. Farming Japan. 19 (6) : 51-57.

Olivia, P. D. and R. C. Barba. 1984. *In vitro* culture of Saba banana { *Musa* sp. cv. saba (BBB)}. The Philippine Agriculturist. 63 : 351-358.

Romberger, J. A. and C. A. Tabor. 1971. The Picia abies shoot apical meristem in culture. I. Agar and autoclaving effects. Amer. J. Bot. 58 (2) : 131-140.

Singha, S. 1982. Influence of agar concentration on *In vitro* shoot proliferation of Malus sp. "Almey" and pyrus communis " Seckel ". J. Amer. Soc. Hort Science. 107 (4) : 657-660.

Skoog, F. and C. O. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured *In vitro.* pp. 118-131. *In* H. K. and Ported (ed.). The Biological Action of growth substances. Academic Press, New York.

Szwevkowska, A. 1974. The role of cytokinins in the control of cell growth and differentiation in culture . pp. 461-475. *In* H. E. Street (ed.). Tissue culture and Plant Science. Academic Press, New York.

Tannaka, R. and H. Ikeda. 1983. Perenial maintenance of annual Haplopappus gracilis, (2n = 4) by shoot tip cloning. Jpn. J. Genet. 58 : 65-70.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 แผนการปฏิบัติงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยในห้องปฏิบัติการ

สัปดาห์ที่	วันที่	รายการปฏิบัติงาน
1	13-20 ม.ค. 37	เริ่มปฏิบัติการ (13 ม.ค.37) เพาะเลี้ยงบนอาหาร 3 สูตร
2	21-27 ม.ค. 37	บันทึกผล (26 ม.ค. 37)
3	28-3 ก.พ. 37	บันทึกผล (3 ก.พ. 37)
4	4-10 ก.พ. 37	เปลี่ยนอาหาร (8 ก.พ.) เพาะเลี้ยงบนอาหาร 3 สูตร
5	11-17 ก.พ. 37	บันทึกผล (15 ก.พ. 37 : Sub 1 check 1)
6	18-24 ก.พ. 37	บันทึกผล (22 ก.พ. 37 : Sub 1 check 2)
7	25-3 มี.ค. 37	บันทึกผล (1 มี.ค. 37 : Sub 1 check 3)
8	4-10 มี.ค. 37	เปลี่ยนอาหาร (5 มี.ค.) เพาะเลี้ยงบนอาหาร 3 สูตร
9	11-17 มี.ค. 37	บันทึกผล (11 มี.ค. 37 : Sub 2 check 1)
10	18-24 มี.ค. 37	บันทึกผล (18 มี.ค. 37 : Sub 2 check 2)
11	25-31 มี.ค. 37	บันทึกผล (25 มี.ค. 37 : Sub 2 check 3)
12	1-7 เม.ย. 37	เปลี่ยนอาหาร (3 เม.ย.) เพาะเลี้ยงบนอาหาร 2 สูตร
13	8-14 เม.ย. 37	บันทึกผล (11 เม.ย. 37 : Sub 3 check 1)
14	15-21 เม.ย. 37	บันทึกผล (18 เม.ย. 37 : Sub 3 check 2)
15	22-28 เม.ย. 37	บันทึกผล (25 เม.ย. 37 : Sub 3 check 3)
16	29-5 พ.ค. 37	เปลี่ยนอาหาร (30 เม.ย.) เพาะเลี้ยงบนอาหาร 2 สูตร
17	6-12 พ.ค. 37	บันทึกผล (6 พ.ค. 37 : Sub 4 check 1)

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

สัปดาห์ที่	วันที่	รายการปฏิบัติงาน
18	13-19 พ.ค. 37	บันทึกผล (13 พ.ค. 37 : Sub 4 check 2)
19	20-26 พ.ค. 37	บันทึกผล (20 พ.ค. 37 : Sub 4 check 3)
		เปลี่ยนอาหาร (26 พ.ค.) เพาะเลี้ยงบนอาหาร 2 สูตร
20	27-2 มิ.ย. 37	บันทึกผล (2 มิ.ย. 37 : Sub 5 check 1)
21	3-9 มิ.ย. 37	บันทึกผล (9 มิ.ย. 37 : Sub 5 check 2)
22	10-16 มิ.ย. 37	บันทึกผล (16 มิ.ย. 37 : Sub 5 check 3)
23	17-23 มิ.ย. 37	เปลี่ยนอาหาร (22 มิ.ย.) เพาะเลี้ยงบนอาหาร 2 สูตร
24	24-30 มิ.ย. 37	บันทึกผล (27 มิ.ย. 37 : Sub 6 check 1)
25	1-7 ก.ค. 37	บันทึกผล (1 ก.ค. 37 : Sub 6 check 2)
26	8-14 ก.ค. 37	บันทึกผล (6, 13 ก.ค. 37 : Sub 6 check 3)
27	15-21 ก.ค. 37	เปลี่ยนอาหาร (18-19 ก.ค.)เพาะเลี้ยงบนอาหาร 2 สูตร
28	22-28 ก.ค. 37	บันทึกผล (26 ก.ค. 37 : Sub 7 check 1)
29	29-4 ส.ค. 37	บันทึกผล (3 ส.ค. 37 : Sub 7 check 2)
30	5-11 ส.ค. 37	บันทึกผล (10 ส.ค. 37 : Sub 7 check 3)
31	12-18 ส.ค. 37	บันทึกผล (16-17 ส.ค. 37 : Sub 7 check 4)

วิธีวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน

Rep.-Media

$$\text{Total SS} = \sum X^2 - \text{C.F.}$$

$$= [\ 12^2 + 11^2 \ldots\ldots 21^2\ ] - 22{,}721.111$$

$$= 30{,}046 - 22{,}721.111$$

$$= 7{,}324.889$$

$$\text{Rep.SS} = \frac{(291)^2 + (284)^2 + (289)^2 + (271)^2 + (295)^2}{(3)\ (3)\ (2)} - 22{,}721.111$$

$$= \frac{409{,}324}{18} - 22{,}721.111$$

$$= 22{,}740.222 - 22{,}721.111$$

$$= 19.111$$

$$\text{A(Media)SS} = \frac{(718)^2 + (712)^2}{3 \times 3 \times 5} - 22{,}721.111$$

$$= \frac{1{,}022{,}468}{45}$$

$$= 22{,}721.511 - 22{,}721.111$$

$$= 0.4$$

$$\text{Error(a)SS} = \frac{(145)^2 + (151)^2 + \ldots\ldots (148)^2}{3x3}$$

$$- \text{C.F.} - \text{Rep.SS} - \text{A.SS}$$

$$= \frac{204,941}{3x3}$$

$$= 22,768.222 - 22,721.111 - 19.111 - 0.4$$

$$= 27.6$$

B analysis

$$\text{B.SS} = \sum \frac{(P)^2}{rac} - \text{C.F.}$$

$$= \frac{(309)^2 + (301)^2 + (820)^2}{5 \times 2 \times 3} - 22,721.111$$

$$= \frac{858,482}{30} - 22,721.111$$

$$= 28,616.066 - 22,721.111$$

$$= 5,894.955$$

$$\text{(A x B) SS} = \sum \frac{(MP)^2}{rc} - \text{C.F.} - \text{A.SS} - \text{B.SS}$$

$$= \frac{(162)^2 + (148)^2 + (408)^2 + (147)^2 + (153)^2 + (412)^2}{5 \times 3}$$

$$= \frac{429,374}{15} - 22,721.111 - 0.4 - 5,894.955$$

$$= 8.467$$

$$\text{Error(B)SS} = \sum_{c} \frac{(RMP)^2}{} - \text{C.F.} - \text{Rep.SS} - \text{A.SS}$$

$$-\text{Error(m)SS} - \text{B.SS} - (\text{AxB})\text{SS}$$

$$= (31)^2 + (29)^2 + (39)^2 + (28)^2 + (35)^2$$
$$+ (29)^2 + (35)^2 + (26)^2 + (26)^2 + (32)^2$$
$$+ (85)^2 + (87)^2 + (81)^2 + (75)^2 + (80)^2$$
$$+ (29)^2 + (25)^2 + (31)^2 + (28)^2 + (34)^2$$
$$+ (30)^2 + (32)^2 + (26)^2 + (33)^2 + (32)^2$$
$$+ (87)^2 + (76)^2 + (86)^2 + (81)^2 + (82)^2$$

$$= \frac{86,260}{3} - 22,721.111 - 19.111 - 0.4 - 27.6$$
$$- 5,894.955 - 8.467$$

$$= 81.687$$

C analysis

$$C.SS = \sum \frac{C^2}{rab} - C.F.$$

$$= \frac{(469)^2 + (44)^2 + (467)^2}{5 \times 2 \times 3} - 22,721.11$$

$$= \frac{682,086}{30} - 22,721.111$$

$$= 15.089$$

$$(AxC)\ SS = \sum \frac{(AC)^2}{rb} - C.F. - A.SS - C.SS$$

$$= (228)^2 + (246)^2 + \ldots\ldots (223)^2$$

$$= \frac{341,350}{5x3} - 22,721.111 - 0.4 - 15.089$$

$$= 20.066$$

$$(BxC)\ SS = \sum \frac{(BC)^2}{ra} - C.F. - B.SS - C.SS$$

$$= \frac{(114)^2 + (101)^2 + \ldots\ldots (270)^2}{5 \times 2} - 22,721.111$$

$$- 5,894.955 - 15.089$$

$$= \frac{287,242}{10} - 22,721.111$$

$$= 93.045$$

$$\text{(AxBxC) SS} = \sum \frac{(ABC)^2}{r} - \text{c.F.} - \text{A.SS} - \text{B.SS} - \text{C.SS}$$

$$- (\text{AxB})\text{SS} - (\text{AxC})\text{SS} - (\text{BxC})\text{SS}$$

$$= \frac{143,950}{5} - 22721.11 - 0.4 - 5,894.955$$

$$- 15.089 - 8.467 - 20.066 - 93.045$$

$$= 36.858$$

$$\text{Error(C)SS} = \text{Total SS} - (\text{the sum of all other SS})$$

$$= 7,324.889 - (6,197.278)$$

$$= 1,127.611$$