



ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์กล้วยหอมทองด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์
จมข้าวคราวแบบขวดแฝดในระดับอุตสาหกรรม

สาริศา ดวงบาล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2560

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์กล้วยหอมทองด้วยระบบไบโอรีแอกเตอร์
จมข้าวคราวแบบขวดแฝดในระดับอุตสาหกรรม

สาริศา ดวงบาล

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร.นพณี โทบุญยานนท์)

วันที่ 10 เดือน เมษายน พ.ศ. 2560

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ภูมิสุทธาผล)

วันที่ 10 เดือน เมษายน พ.ศ. 2560

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีรณัฐ เจริญกิจ)

วันที่ 10 เดือน เมษายน พ.ศ. 2560

ประธานประจำหลักสูตร

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ภูมิสุทธาผล)

วันที่ 10 เดือน เมษายน พ.ศ. 2560

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 10 เดือน เมษายน พ.ศ. 2560

ชื่อเรื่อง

ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์กล้วยหอมทองด้วยระบบ
ไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวแบบขวดแฝดในระดับ

อุตสาหกรรม

ชื่อผู้เขียน

นางสาวสาริศา ดวงบาล

ชื่อปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

รองศาสตราจารย์ ดร.นพณีย์ โทบุญญานนท์

บทคัดย่อ

กล้วยหอมทองเป็นผลไม้เศรษฐกิจระดับอุตสาหกรรมของประเทศไทยที่มีความต้องการสูงมากทั้งบริโภคภายในและตลาดส่งออก แต่การขยายพันธุ์และการผลิตต้นกล้วยด้วยวิธีการขยายพันธุ์ปกติไม่เพียงพอ และพบปัญหาการเกิดโรคที่ส่งผลกระทบต่อผลผลิตกล้วยหอมทอง ด้วยเหตุนี้จึงมีความต้องการพันธุ์กล้วยหอมทอง ซึ่งต้องใช้ต้นกล้วยหอมทองจากการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชซึ่งเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ทำให้ได้ต้นที่ปลอดโรค ในงานวิจัยครั้งนี้จึงทำการศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับระบบขยายพันธุ์กล้วยหอมทองด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราว (TIB) โดยทำการวิจัยแบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอน ได้แก่ 1. ระยะการชักนำให้เกิดต้น ศึกษาใช้สารฟอกฆ่าเชื้อ 3 ชนิด ได้แก่ เมอร์คิวริกคลอไรด์ (HgCl_2) 0.1% โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (NaClO) 0.8% และ สารฆ่าเชื้อเพอร์ซูล (PursueTM) 3% โดยนำชิ้นส่วนไปฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารทั้ง 3 ชนิด เป็นเวลา 10 นาที ผลปรากฏว่าชิ้นส่วนพืชที่ฟอกฆ่าเชื้อด้วย HgCl_2 0.1% มีการรอดชีวิต 50% รองลงมา คือ PursueTM 3% และ NaClO 0.8% มีการรอดชีวิต 42.5 และ 12.5% ตามลำดับ 2. ระยะเพิ่มปริมาณต้น ศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มปริมาณ ได้แก่ การผ่าชิ้นส่วนตั้งต้น (ไม่ผ่ายอด, ผ่ายอด 2 ส่วน และ 4 ส่วน) thidiazuron (TDZ) (0, 0.125 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร) และระบบเพาะเลี้ยง (ระบบ TIB ภาชนะขนาด 700 มิลลิลิตร และ อาหารแข็ง) ทำการทดลอง 3 รอบต่อเนื่องกันรอบละ 6 สัปดาห์ ผลปรากฏว่า การผ่ายอด 4 ส่วนร่วมกับ TDZ 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตรและเพาะเลี้ยงในระบบ TIB มีความเหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณยอดมากที่สุดคือ มีการเพิ่มปริมาณยอดต่อชิ้นส่วนสูง โดยเฉพาะในการทดลองรอบที่ 3 มีจำนวนยอดมากถึง 11.03 ยอดต่อชิ้นส่วนในระยะเวลา 6 สัปดาห์ นอกจากนี้จำนวนยอดต่อภาชนะเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนในการทดลองรอบที่ 2 และ 3 คือ 48 และ 132 ยอดต่อภาชนะ ตามลำดับ ซึ่งเพิ่มสูงขึ้นจากการทดลองรอบที่ 1 (23 ยอดต่อภาชนะในเวลา 6 สัปดาห์) ถึง 2.08 และ 5.74 เท่า ตามลำดับ 3. ระยะยืดยาวและออกราก ทำการศึกษานิตและความเข้มข้นของออกซินที่เหมาะสมกับต้นกล้วยที่ได้จากระยะเพิ่มปริมาณในอาหารที่เติม 1-Naphthaleneacetic

acid (NAA) และ Indole-3-butylic acid (IBA) 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงใน TIB ขนาด ภาชนะขนาด 20 ลิตร โดยเวลาในการให้อาหาร 2 และ 6 ครั้งต่อวันนานครั้งละ 5 นาที ผลการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง คือ เวลาในการให้อาหาร 6 ครั้งต่อวันนานครั้งละ 5 นาที ในอาหารที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมต่อการชักนำให้ออกรากโดยมีจำนวนรากเฉลี่ย 10 รากต่อต้น มีความยาวรากเฉลี่ย 8.7 เซนติเมตร และ เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์ 4. จากนั้นนำมาเพิ่มศักยภาพการยืดยาวและการออกรากของต้นกล้วยด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมแบบชั่วคราวขนาดอุตสาหกรรม (ภาชนะขนาด 20 ลิตร) ด้วยการนำต้นระยะเพิ่มปริมาณต้นมาเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่มี NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์ ต้นกล้วยเจริญเติบโตขึ้นอย่างสมบูรณ์ แข็งแรง มีขนาดต้นสูงเฉลี่ย 11.4 เซนติเมตร จำนวนรากเฉลี่ย 8 ราก เมื่อนำต้นออกปลูกในเรือนโรง ต้นรอดตาย 95% 5. การจัดทำโมเดลของระบบผลิตต้นกล้วยหอมทองด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวในระดับอุตสาหกรรมด้วยการนำผลการทดลองทั้งหมดข้างต้นมาออกแบบและจัดทำโมเดล เพื่อจัดทำขั้นตอนระบบการผลิตต้นกล้วยในระดับอุตสาหกรรมในรูปแบบที่เข้าใจง่าย

คำสำคัญ : การเพิ่มปริมาณ, การข่มตายอด, TDZ, การตัดถ่ายเนื้อเยื่อ

Title	Appropriate factor on banana micropropagation using twin flask temporary immersion on an bioreactor in industrial level
Author	Miss Sarisa Duangbal
Degree	Master of Science in Biotechnology
Advisor Committee Chairperson	Associate Professor Dr. Nopmanee Topoonyanont

ABSTRACT

The industrial fruit *Musa* 'Kluai Hom Thong' is of economic importance to Thailand. Henceforth fourth has the need for multiplication. The production of banana seedlings in nurseries is insufficient to respond to a high demand especially for the export markets. There is also the problem of diseases that affects the yield. This is the main reason why there is a need for micropropagation through plant tissue culture method on an industrial level. In this research, the factors involved in banana micropropagation by using the temporary immersion bioreactor (TIB), were studied in four (4) stages. Stage 1 involved the shoot induction by investigating the appropriate sterilizing agents, namely: 0.1% mercuric chloride (HgCl_2), 0.8% sodium hypochlorite (NaClO) and 3% PursueTM. After banana initial explants were exposed to the 3 types of sterilizing agents for 10 minutes, it was found that explants exposed to 0.1% HgCl_2 had a 50% survival rate followed by 3% PursueTM and 0.8% NaClO at 42.5% and 12.5%, respectively. Stage 2 involved the study on multiplication in vitro, based on the factors related to the increase of shoots. Factors included methods of cutting of explants (no cutting, 2 and 4 cuttings); thidiazuron (TDZ) concentration (0, 0.125 and 0.25 mg/L); and culturing system (TIB with 700 ml container and solid medium system). The experiment was conducted in 3 cycles consecutively. Results showed that explants with 4 cuts with 0.125 mg/L TDZ and cultured in TIB were highly appropriate for multiplication as shown by the highest number of shoots per explant especially during the 3rd cycle with 11.03 shoots per explant., 4. The resulting number of shoots per container in 2nd and 3rd cycles, was 48 and 132 which was 2.08 and 5.74 higher than in the 1st cycle (23 shoots per container). Stage 3 involved root induction by studying the type and concentration of auxin that are appropriate for banana shoots

and resulted from the use of supplements, 1-naphthaleneacetic acid (NAA) or indole-3-butylic acid (IBA) at 0.5 and 1 mg/L in TIB within 700 ml container and a feeding frequency of 2 and 6 times per day each at a 5 minute-period. Results showed that ideal conditions for rooting consisted of feeding frequencies of 6-times/day at 5 minutes per feeding using 1 mg/L NAA and resulted in the induction of roots at an average of 10 roots per explants with average root length of 8.7 cm. In order to increase the efficiency of rooting stages, banana shoots from multiplication stages were then cultured in 20L TIB with MS medium supplemented with 1 mg/L NAA for 6 weeks. Results showed that shoots were healthy, rooted and when transferred to the greenhouse 95% survived. Stage 4 involved the application of the initial results in making a module in the production system of *Musa* 'Kluai Hom Thong' in a temporary immersion bioreactor at industrial level.

Keywords: multiplication, apical dominance, thidiazuron, subculturing

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษางานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องด้วยความกรุณาของประธานกรรมการที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.นพฉณี โทบุญญานนท์ และกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปวีณา ภูมิสุทธาผล และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิรนุช เจริญกิจ ที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือ พร้อมทั้งให้ความรู้ สนับสนุนให้คำปรึกษาต่างๆ ในระหว่างดำเนินการวิจัย และแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ และคอยให้กำลังใจแก่ข้าพเจ้ามาโดยตลอด ทั้งนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ัญญะ เตชะศิลปัทธน์ ที่ให้เกียรติเป็นประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ให้แก่วิทยา ให้อำนาจที่ดี และ ให้ความรู้ทักษะในการทำงานวิจัยที่ต้องนำความรู้ในหลาย ๆ ทั้งทางด้าน การปรับปรุงพันธ์ พืชสวน เป็นต้น มาปรับใช้กับงานวิจัยเพื่อให้ได้งานวิจัยที่มีคุณภาพ ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์เล่มนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ รังสิมา อัมพวัน ที่เอื้อเฟื้อต้นกล้วยหอมทองในงานวิจัยและตลอดจนการให้คำแนะนำต่าง ๆ

ขอขอบคุณ นางสาว ธนาภรณ์ แก้วดำ ที่คอยให้ความช่วยเหลือทุกอย่างในการปฏิบัติงานในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คอยช่วยเหลือทุกอย่างตลอดเวลาที่เรียนปริญญาโทมาบัณฑิต และให้คำปรึกษาหาทางแก้ไขปัญหายกขึ้นอย่างดีจนทำให้งานวิจัยสมบูรณ์

นอกจากนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา คุณพ่อวิลเลียม คุณแม่สมจิต ดวงบาล ที่มอบโอกาส สนับสนุนตลอดการศึกษา และคอยให้กำลังใจ อบรมสั่งสอนเลี้ยงดู พร้อมทั้งมอบความห่วงใยให้ข้าพเจ้ามาโดยตลอด และขอบคุณน้องๆ และเพื่อนห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ในการช่วยเหลือ และให้กำลังใจมาโดยตลอด

ทั้งนี้ ข้าพเจ้าหวังว่า งานวิจัยฉบับนี้จะมีประโยชน์ แก่ผู้ที่สนใจศึกษา จึงขอมอบความดีอันมาจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ แต่ บิดา มารดา ตลอดจนครูอาจารย์ที่อบรมสั่งสอน ประสิทธิ์ประสาทความรู้มาจนถึงปัจจุบัน

สาริตา ดวงบาล

เมษายน 2560

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
ABSTRACT	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(7)
สารบัญ	(8)
สารบัญตาราง	(10)
สารบัญภาพ	(11)
บทที่ 1 บทนำ	1
ความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์การวิจัย	2
ขอบเขตการวิจัย	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	4
ลักษณะทั่วไปของกล้วย	4
ชนิดของกล้วย	4
สถานการณ์ตลาดกล้วยในประเทศไทย	6
โรคในกล้วยหอมทองที่มีผลต่อการส่งออกกล้วย	7
แหล่งเพาะปลูกกล้วย	8
การขยายพันธุ์กล้วย	8
เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	10
ขั้นตอนการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	10
ขั้นตอนการขยายพันธุ์กล้วยด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	11
เทคโนโลยีขยายพันธุ์พืชด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์	15
ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์	17

บทที่ 3 วิธีการวิจัย	18
งานวิจัยที่ 1 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อหน่อกล้วยในสภาพ ปลอดเชื้อ	21
งานวิจัยที่ 2 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้นกล้วยในระบบไบโอรี แอกเตอร์ขนาดเล็ก เปรียบเทียบกับอาหารแข็ง 3 รอบ	22
งานวิจัยที่ 3 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการยืดยาว และ การออกรากของต้น กล้วยในระบบไบโอรีแอกเตอร์ขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร	24
งานวิจัยที่ 4 การเพิ่มศักยภาพการยืดยาวและออกรากของต้นกล้วยด้วยระบบไบโอ รีแอกเตอร์ขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร	25
งานวิจัยที่ 5 การสร้างโมเดลระบบผลิตต้นกล้วยด้วยระบบไบโอรีแอกเตอร์	26
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์	27
ผลการวิจัยงานวิจัยที่ 1 ผลการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อหน่อกล้วย ในสภาพปลอดเชื้อ	27
ผลการวิจัยงานวิจัยที่ 2 ผลการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้นกล้วยใน ระบบไบโอรีแอกเตอร์ขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับอาหารแข็ง	30
ผลการวิจัยงานวิจัยที่ 3 ผลของการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการยืดยาว และ การ ออกรากของต้นกล้วยในระบบไบโอรีแอกเตอร์ขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร	49
ผลการวิจัยงานวิจัยที่ 4 ผลการเพิ่มศักยภาพการยืดยาวและออกรากของต้นกล้วย ด้วยระบบไบโอรีแอกเตอร์ขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร	52
ผลการวิจัยงานวิจัยที่ 5 การสร้างโมเดลระบบผลิตต้นกล้วยด้วยระบบไบโอรีแอก เตอร์	57
วิจารณ์ผลการทดลอง	58
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	62
ระยะชักนำให้เกิดต้น	62
ระยะเพิ่มปริมาณต้น	62
ระยะยืดยาวและชักนำให้ออกราก	63
บรรณานุกรม	64
ภาคผนวก	69
ภาคผนวก ก ประวัติผู้วิจัย	71

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	เปอร์เซ็นต์ต้นชนิดต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นบนชิ้นส่วนตั้งต้นกล้วยหอมทองที่มีการฝ่ายอดแบบต่าง ๆ เพาะเลี้ยงด้วยอาหารเหลวในระบบ TIB สูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ความเข้มข้นแตกต่างกัน ทำการทดลอง 3 รอบ นานรอบละ 6 สัปดาห์	35
2	เปอร์เซ็นต์ต้นชนิดต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นบนชิ้นส่วนตั้งต้นกล้วยหอมทองที่มีการฝ่ายอดแบบต่าง ๆ เพาะเลี้ยงด้วยอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ความเข้มข้นแตกต่างกัน ทำการทดลอง 3 รอบ นานรอบละ 6 สัปดาห์	35

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	อุปกรณ์และวิธีการต่อหัว TIB ขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร	19
2	อุปกรณ์และวิธีการต่อหัว TIB ขนาดภาชนะ 20 ลิตร	20
3	ชิ้นส่วนตั้งต้นของกล้วยที่เริ่มเพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตรที่มีลักษณะผ่าชิ้นส่วน 3 แบบคือไม่ผ่า ผ่า 2 ส่วน และผ่า 4 ส่วนในอาหารที่มี TDZ 0, 0.125 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร	23
4	ชิ้นส่วนตั้งต้นของกล้วยที่เริ่มเพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็งขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตรที่มีลักษณะการผ่าชิ้นส่วน 3 แบบ คือ ไม่ผ่า ผ่า 2 ส่วนและผ่า 4 ส่วน ในอาหารที่มี TDZ 0, 0.125 และ 0.250 มิลลิกรัมต่อลิตร	24
5	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนกล้วยหลังการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารเคมี 3 ชนิด เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์	27
6	ลักษณะการปนเปื้อนของชิ้นส่วนตั้งต้นของกล้วยหลังจากการฟอกฆ่าเชื้อ	28
7	เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนกล้วยที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ	28
8	ต้นกล้วยปลอดเชื้อที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อด้วย HgCl_2 0.1% ที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 5 นาที และลักษณะต้นกล้วยที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB เป็นระยะเวลานาน 4 สัปดาห์	29
9	ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นกล้วยหอมทองที่มีชิ้นส่วนตั้งต้นแบบไม่ผ่า ผ่า 2 ส่วน และผ่า 4 ส่วนในอาหารเหลว MS ที่มีการเติม TDZ 0, 0.125 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร และระบบอาหารแข็งรอบที่ 1 2 3 เป็นเวลารอบละ 6 สัปดาห์	31
10	ลักษณะต้นโต ต้นเล็ก และต้นจิว ที่เกิดขึ้นบนชิ้นส่วนยอดกล้วยหอมทองในระยะเพิ่มปริมาณในสภาพปลอดเชื้อ เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวแบบขวดแฝดเพาะเลี้ยงรอบที่ 3 เป็นเวลา 6 สัปดาห์	32
11	ลักษณะต้นกล้วยหอมทองที่มีชิ้นส่วนตั้งต้นแบบผ่า 2 ส่วน และเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวแบบขวดแฝดเพาะเลี้ยงรอบที่ 1 เป็นเวลา 6 สัปดาห์	32
12	ลักษณะต้นกล้วยหอมทองที่มีชิ้นส่วนตั้งต้นแบบ ผ่า 4 ส่วนในอาหารที่มี TDZ 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวขนาด 700 มิลลิลิตร และระบบอาหารแข็งที่เพาะเลี้ยงรอบที่ 2 เป็นเวลา 6 สัปดาห์	33

ภาพที่	หน้า
13	ลักษณะต้นกล้วยหอมทองที่มีขึ้นส่วนตั้งต้นแบบผ่า 2 ส่วน และเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝดเพาะเลี้ยงรอบที่ 3 และระบบอาหารแข็ง เป็นเวลา 6 สัปดาห์ 34
14	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของขึ้นส่วนตั้งต้นกล้วยหอมทองที่มีการฝಾಯอดแบบต่าง ๆ เพาะเลี้ยงด้วยอาหารเหลวในระบบ TIB หรืออาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ความเข้มข้นแตกต่างกัน ทำการทดลอง 3 รอบ นานรอบละ 6 สัปดาห์ 37
15	จำนวนต้นต่อขึ้นส่วนตั้งต้นกล้วยหอมทองที่มีการฝायอดแบบต่าง ๆ เพาะเลี้ยงด้วยอาหารเหลวในระบบ TIB หรืออาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ความเข้มข้นแตกต่างกัน ทำการทดลอง 3 รอบ นานรอบละ 6 สัปดาห์ 39
16	จำนวนต้นต่อภาชนะของกล้วยหอมทองที่มาจากการฝायอดแบบต่าง ๆ เพาะเลี้ยงด้วยอาหารเหลวในระบบ TIB หรืออาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ความเข้มข้นแตกต่างกัน ทำการทดลอง 3 รอบ นานรอบละ 6 สัปดาห์ 40
17	จำนวนใบต่อต้นของกล้วยหอมทองที่ขึ้นส่วนตั้งต้นแบบไม่ผ่า ผ่า 2 ส่วนและผ่า 4 ส่วนในอาหารเหลว MS ที่มีการเติม TDZ 0, 0.125 และ 0.250 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับระบบอาหารแข็ง 3 รอบ ๆ ละ 6 สัปดาห์ 42
18	ความกว้างใบของต้นกล้วยหอมทองที่ขึ้นส่วนตั้งต้นแบบไม่ผ่า ผ่า 2 ส่วนและผ่า 4 ส่วนในอาหารเหลว MS ที่มีการเติม TDZ 0, 0.125 และ 0.250 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับระบบอาหารแข็ง 3 รอบ ๆ ละ 6 สัปดาห์ 44
19	ความยาวใบต่อต้นของต้นกล้วยหอมทองที่มีลักษณะขึ้นส่วนแบบไม่ผ่า ผ่า 2 ส่วนและผ่า 4 ส่วนในอาหาร MS ที่มีการเติม TDZ 0, 0.125 และ 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับระบบอาหารแข็ง 3 รอบ ๆ ละ 6 สัปดาห์ 45
20	ความสูงต่อต้นของกล้วยหอมทองต่อขึ้นส่วนตั้งต้นแบบไม่ผ่า ผ่า 2 ส่วนและผ่า 4 ส่วนในอาหารเหลว MS ที่มีการเติม TDZ 0, 0.125 และ 0.250 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับระบบอาหารแข็ง 3 รอบ ๆ ละ 6 สัปดาห์ 47

ภาพที่	หน้า	
21	น้ำหนักสดต่อชิ้นส่วนของกล้วยหอมทองต่อชิ้นส่วนตั้งต้นแบบไม่ผ่า ผ่า 2 ส่วนและผ่า 4 ส่วนในอาหารเหลว MS ที่มีการเติมTDZ 0, 0.125 และ 0.250 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับระบบอาหารแข็ง 3 รอบ ๆ ละ 6 สัปดาห์	48
22	จำนวนรากต่อต้นของกล้วยหอมทองที่มาจากการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB 2 และ 6 ครั้งต่อวัน ในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA และ IBA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์	49
23	ความยาวรากของกล้วยหอมทองที่มาจากการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB 2 และ 6 ครั้งต่อวัน ในสูตร MS ที่เติม NAA และ IBA ความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์	50
24	ความสูงต้นของกล้วยหอมทองที่มาจากการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB 2 และ 6 ครั้งต่อวัน ในสูตร MS ที่เติม NAA และ IBA ความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์	51
25	ต้นกล้วยหอมทองที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร ที่ให้อาหาร 2 และ 6 ครั้งต่อวัน ในอาหารสูตร MS ที่มี NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์	52
26	จำนวนต้นต่อภาชนะของต้นกล้วยหอมทองที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร ให้อาหาร 2 และ 6 ครั้งต่อวัน ในอาหารสูตร MS ที่มี NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์	53
27	จำนวนใบต่อต้นของต้นกล้วยหอมทองที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร ให้อาหาร 2 และ 6 ครั้งต่อวัน ในอาหารสูตร MS ที่มี NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์	53
28	ความกว้างใบของต้นกล้วยหอมทองที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร ให้อาหาร 2 และ 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 5 นาที ในอาหารสูตร MS ที่มี NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์	54
29	ความยาวใบของต้นกล้วยหอมทอง ที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร ให้อาหาร 2 และ 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 5 นาที ในอาหารสูตร MS ที่มี NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์	54

ภาพที่		หน้า
30	จำนวนรากต่อต้นกล้วยหอมทอง ที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร ให้อาหาร 2 และ 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 5 นาที่ ในอาหารสูตร MS ที่มี NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์	55
31	ความยาวรากของต้นกล้วยหอมทองที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร ให้อาหาร 2 และ 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 5 นาที่ ในอาหารสูตร MS ที่มี NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์	55
32	ต้นกล้วยจากการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ขนาด 20 ลิตร ให้อาหาร 2 และ 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 5 นาที่ นำมาอนุบาลต้นในเรือนโรงเป็นระยะเวลานาน 6 สัปดาห์	56
33	โมเดลการผลิตต้นกล้วยด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวเพื่อรองรับอุตสาหกรรมการผลิตกล้วย	57

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญของปัญหา

กล้วยหอมทองเป็นพืชเศรษฐกิจที่ได้รับความนิยมแบบกินผลสด เป็นที่นิยมในตลาดขนาดใหญ่ คือ ญี่ปุ่น เนื่องจากกล้วยหอมทองจากประเทศไทยมีรสหวานหอมและปลอดภัยไร้พิษ ในขณะที่ประเทศแถบอเมริกากลางและอเมริกาใต้ปลูกกล้วยที่นิยมของโลกเพื่อการส่งออก ได้แก่ กล้วยหอมคาเวนดิชเป็นส่วนใหญ่ ประเทศไทยมีคู่ค้าเรื่องกล้วยหอมที่สำคัญ คือ ญี่ปุ่น ฮองกง และจีน ส่วนคู่แข่งที่สำคัญ คือ ฟิลิปปินส์ เอกวาดอร์ เบลีซ และคอสตาริกา โดยประเทศที่มีการส่งออกกล้วยหอมทองมากที่สุดในโลก คือ อินเดีย ปริมาณ 24,869,490 ตันต่อปี รองลงมา คือ จีน ปริมาณ 10,550,000 ตัน และ ฟิลิปปินส์ 9,225,998 ตันต่อปี (เบญจมาศ, 2558)

อย่างไรก็ตามปัญหาการผลิตกล้วยหอมทองเพื่อการส่งออกมีหลายด้านทั้งภัยธรรมชาติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในปี 2556 เกิดน้ำท่วมบริเวณที่ปลูกกล้วยหอมทอง ได้แก่ แถบภาคกลางจังหวัดนนทบุรี และ เพชรบุรี สร้างความเสียหายต่อผลผลิตกล้วยเพื่อการส่งออกเป็นอย่างมาก (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2558) และเกิดโรคคุกคาม โรคใบด่าง ซึ่งเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส Banana bract mosaic virus (BBMV) และ โรคตายพวย (Panama disease) หรือโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* ลักษณะของโรคจะแผ่ตัวเข้าไปในหน่อกล้วย ทำลายลำต้นขยายเป็นวงกว้าง ใบเหลือง และตายในที่สุด ซึ่งโรคสามารถแพร่กระจายในบริเวณเพาะปลูก ทำให้ต้นพันธุ์กล้วยเสียหายอย่างมาก เกษตรกรผู้ปลูกกล้วยหอมทองจึงต้องการพันธุ์กล้วยที่ต้านทานโรคและหน่อพันธุ์ที่ปลอดโรค ทั้งนี้เทคโนโลยีทางการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สามารถเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์ต้านทานโรค และผลิตต้นพันธุ์ที่ปลอดโรคได้ ซึ่งปัจจุบันได้มีการนำเอาเทคโนโลยีการด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาผลิตต้นพันธุ์กล้วยดังกล่าวแล้ว

เบญจมาศ (2558) รายงานขั้นตอนของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยในสภาพอาหารแข็งว่าเริ่มจากการใช้หน่อ หรือหัวปลีมาเป็นชิ้นส่วนตั้งต้น จากนั้นนำมาเพิ่มปริมาณในอาหารสูตรที่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ส่วนใหญ่ที่ใช้ ได้แก่ benzyladenine ที่มีความเข้มข้น 1-5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อให้ได้จำนวนต้นที่เพียงพอแล้วจึงนำมาย้ายลงอาหารสูตรเดิม และเมื่อจะทำให้ต้นออกรากจะย้ายลงอาหารใหม่ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต แต่อย่างไรก็ตามยังมีรายงานวิจัยหลายเรื่องที่ยังมีรายงานเกี่ยวกับปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงกล้วยสายพันธุ์ต่าง ๆ ได้แก่ สารควบคุมการเจริญเติบโต (ราฮีมา และสะมะแอ, 2554) แสง (Wilken et al. 2014) และสภาพอาหาร (Alvard et al. 1993) แสดงให้เห็นว่ายังต้องมีการพัฒนาประสิทธิภาพของการเพิ่มปริมาณต้นกล้วย โดยเฉพาะ

ปัญหาการเพิ่มปริมาณในสภาวะอาหารแข็งที่ใช้ระยะเวลานานและได้จำนวนต้นต่อรอบการผลิตต่ำเมื่อเทียบกับปริมาณความต้องการต้นในระดับอุตสาหกรรม จึงจำเป็นที่จะต้องพัฒนาระบบการผลิตเพื่อตอบสนองความต้องการต้นพันธุ์พืชในระดับอุตสาหกรรม

ปัจจุบันมีเทคโนโลยีที่สามารถพัฒนาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตต้นพันธุ์พืชในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝด ซึ่งได้เริ่มพัฒนาระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวในการการผลิตต้นปทุมมาต้นทุนต่ำ ร่วมกับการทดสอบสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสม และสามารถขยายพันธุ์ปทุมมาระยะเพิ่มปริมาณโดยใช้ TDZ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการทดลองออกแบบและติดตั้งระบบ ซึ่งในประเทศไทย นพมณี และคณะ (2551) ได้พัฒนาระบบการขยายพันธุ์ปทุมมาด้วยการออกแบบและติดตั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝดชุดเล็ก (ภาชนะขนาด 700 มิลลิตร) จำนวน 200 ชุด นวัตกรรมนี้สามารถเพิ่มปริมาณต้นปทุมมาได้ดี ต่อมา นพมณี และคณะ (2553; 2555) ได้พัฒนาระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดอุตสาหกรรมที่มีขนาดภาชนะ 20 ลิตร และระบบควบคุมการให้อาหารอัตโนมัติ พร้อมกันได้คราวละ 8 ชุด สามารถให้ผลผลิตต้นอ้อย 40,000 ต้นต่อรอบการผลิต จากการวิเคราะห์การลงทุน พบว่าสามารถลดต้นทุนการผลิตได้ถึง 51 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์ของกล้วยหอมทองด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว โดยทำการศึกษาปัจจัยในการชักนำให้เกิดต้น การเพิ่มปริมาณต้นด้วยความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ TDZ และวิธีการผ่าชิ้นส่วนตั้งต้นที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณ ศึกษาการออกรากของต้นกล้วย จากนั้นทำการสร้างโมเดลระบบผลิตต้นกล้วย ต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการชักนำการเกิดต้น
2. เพื่อศึกษาปัจจัยความเข้มข้น TDZ และ วิธีผ่าชิ้นส่วนตั้งต้น ต่อการเพิ่มปริมาณต้นกล้วยหอมทองด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝด
3. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการออกรากต้นกล้วยหอมทองด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดอุตสาหกรรม
4. เพื่อสร้างโมเดลของระบบการผลิตต้นกล้วยหอมทองในระดับอุตสาหกรรม

ขอบเขตการวิจัย

ทำการศึกษาการขยายพันธุ์นกกล้วยหอมทองในระดับอุตสาหกรรม โดยเริ่มต้นตั้งแต่ชักนำ การเกิดต้น การเพิ่มปริมาณต้นกล้วยหอมทองในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวขนาดอุตสาหกรรม โดยศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ เพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณต้นร่วมกับลักษณะการผ่าซีกส่วนตั้งต้น เพิ่มปริมาณการแตกต้น เพื่อเพิ่ม ประสิทธิภาพของซีกส่วนตั้งต้น ให้ได้จำนวนมากกว่า 1 ซีกส่วน แล้วนำไปเพาะเลี้ยงในระบบไบโอรี แอคเตอร์จุ่มชั่วคราวเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ อีกทั้งยังทดสอบในอาหารแข็งควบคู่กันไป ทั้งนี้จะทำการทดลองแบบที่กล่าวข้างต้น 3 รอบ เพื่อศึกษาผลของการสะสมสารควบคุมการเจริญเติบโตภายใน ต้นแต่ละรอบ หากมีการเพิ่มปริมาณต้นที่มากเกินไป จะทำการปรับความเข้มข้นของสารควบคุมการ เจริญเติบโตให้เหมาะสม จากนั้นนำต้นที่ได้ในระยะเพิ่มปริมาณไปศึกษาประสิทธิภาพการออกราก โดยศึกษาชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซินต่อการออกรากด้วย ระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวระดับอุตสาหกรรม จากนั้นนำต้นที่ออกรากในสภาพปลอดเชื้อออก ปลุกในเรือนโรง

เมื่อได้ปัจจัยที่เหมาะสมในการผลิตต้นกล้วยด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาดอุตสาหกรรม แล้ว จึงนำองค์ความรู้ที่ได้ทั้งหมดมาสร้างเป็นรูปแบบโมเดลของระบบการผลิตต้นกล้วยต่อไป

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ระบบการผลิตต้นพันธุ์กล้วยหอมทองด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราว จะเป็น เทคโนโลยีใหม่ที่สามารถเพิ่มปริมาณต้นได้จำนวนมากในระดับอุตสาหกรรม ส่งผลทำให้เกษตรกรมี รายได้จากการส่งออกมากขึ้น

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ลักษณะทั่วไปของกล้วย

กล้วยเป็นพืชในสกุล *Musa* อยู่ในวงศ์ *Musaceae* ซึ่งเป็นพืชที่ชอบอากาศร้อนชื้น มีถิ่นกำเนิดในเอเชียใต้และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ลักษณะสัณฐานของกล้วย คือ ลำต้นจริงอยู่ใต้ดิน ส่วนที่เห็นเหมือนลำต้นเหนือดินนั้นเป็นลำต้นเทียมเพราะเป็นส่วนของกาบใบที่อัดแน่นที่เรียกว่า เหง้า หรือ rhizome ใบมีลักษณะแผ่ออก การเจริญของแผ่นใบเมื่อแทงพ้นจากลำต้นเทียมไปจะตั้งขึ้นและเอนขนานกับพื้นดินส่วนเหง้าหรือลำต้นแท้ของกล้วยจะมีตาข้างเจริญอยู่ระหว่างกิ่งกลางของฐานใบ และมีฐานกาบใบหุ้มอยู่ดังนั้นจึงสังเกตไม่ค่อยพบ ในช่วงแรกของการเจริญของตาจะเห็นตาเป็นรูปหัวเหลี่ยม และเมื่อมีการเจริญขึ้นรูปร่างของตาจะค่อย ๆ ขยายกลายเป็นสี่เหลี่ยม ตาเหล่านี้จะเกิดรอบ ๆ ต้น เมื่อมีการเจริญเติบโตจะมีการแทงหน่อตั้งขึ้นและมีการเจริญอย่างรวดเร็ว เป็นส่วนที่เราเรียกว่า หัวปลี ส่วนในช่อดอกมีกลุ่มของช่อดอกย่อยเป็นกลุ่ม ๆ ระหว่างกลุ่มของช่อดอกย่อยแต่ละช่อจะมีกลีบประดับ หรือที่เรียกว่า กาบปลี มีสีม่วงแดงกันไว้ กลุ่มดอกเพศเมียอยู่ที่โคน และกลุ่มดอกเพศผู้ที่อยู่ที่ยปลาย ระหว่างกลุ่มดอกเพศเมียและดอกเพศผู้มีดอกกะเทย ผลของกล้วยมีรูปร่างหลายแบบแตกต่างกันตามสายพันธุ์และปลายของผลมีลักษณะต่างกันไป (เบญจมาศ, 2558) กล้วยแต่ละชนิดมีลักษณะแตกต่างกันออกไป จากการรวบรวมพันธุ์ทั่วประเทศไทยได้ทั้งหมด 330 สายพันธุ์ นอกจากนี้ปัจจุบันประเทศไทยยังได้มีการนำกล้วยจากต่างประเทศเข้ามามากขึ้น

ชนิดของกล้วย

ในการจำแนกชนิดของกล้วย ด้วยวิธีพื้นฐานของ Simmonds and Shepherd (1955) ซึ่งเป็นวิธีการให้คะแนนกับลักษณะภายนอก 15 ลักษณะ เป็นการให้คะแนนที่บ่งชี้ถึงความสัมพันธ์ของกล้วยป่าที่เป็นบรรพบุรุษทั้ง 2 ชนิด คือ *M. acuminata* (กล้วยป่า) และ *M. balbisiana* (กล้วยตานี) ที่สามารถแบ่งแยกกล้วยกินได้ออกเป็นหลายสายพันธุ์ด้วยกัน ถ้าลักษณะกล้วยที่นำมาจำแนกเหมือนกล้วยป่าให้ 1 คะแนน มีจีโนมเป็น A ซึ่งมาจากคำว่า *acuminata* ถ้าหากกล้วยที่นำมาจำแนกเหมือนกล้วยตานี ให้ 5 คะแนนถือว่าได้ยีนจากกล้วยตานีและจีโนมเป็น B มาจากคำว่า *balbisiana* แต่หากลักษณะกล้วยอยู่ระหว่าง 2 สปีชีส์ นี้ให้คะแนน 2, 3 และ 4 ขึ้นอยู่กับว่าลักษณะนั้นมีแนวโน้มไปทางใด

คะแนนที่รวมได้จาก 15 ลักษณะ จากวิธีดังกล่าว Simmonds and Shepherd (1955) สามารถแยกออกเป็น 5 กลุ่ม ดังนี้

คะแนน	15-23	อยู่ในกลุ่ม AA AAA
คะแนน	26-46	อยู่ในกลุ่ม AAB
คะแนนประมาณ	49	อยู่ในกลุ่ม AB
คะแนน	59-63	อยู่ในกลุ่ม ABB
คะแนนประมาณ	67	อยู่ในกลุ่ม ไม่ได้ระบุกลุ่ม

แต่ต่อมา Silayoi and Babpraserth (1983) ได้เพิ่มกลุ่มของกล้วยที่พบในประเทศไทย คือ กล้วยเล็บช้างกุด ซึ่งมีคะแนนอยู่ระหว่าง 70-75 คะแนน ให้อยู่ในกลุ่ม BB หรือ BBB

รายละเอียดของแต่ละกลุ่มมีดังนี้คือ

กลุ่ม AA (AA Group) ลำต้นมีปื้นสีน้ำตาลเข้มหรือสีช็อคโกแลต กาบลำต้นและใบมีสีเขียวอมเหลือง ไม่มีไข เครือไม้ใหญ่ และผลผลิตต่ำ กล้วยชนิดนี้ต้านทานต่อโรคตายพราย ในประเทศไทยพบกล้วยกลุ่ม AA คือ กล้วยไข่ กล้วยเล็บมือนาง กล้วยหอมเล็ก กล้วยน้ำนม กล้วยน้ำไท กล้วยทอง ชี้แมว เป็นต้น

กลุ่ม AAA (AAA group) ลักษณะต้นสูงใหญ่ แข็งแรง เครือใหญ่ ผลใหญ่ ไม่ต้านทานโรคตายพราย กล้วยชนิดนี้มีเกิดขึ้นตามธรรมชาติอยู่ชนิดเดียวที่ปาปัวนิวกินี ส่วนใหญ่เกิดจากการผสมพันธุ์โดยมนุษย์ สามารถแยกออกเป็น 3 กลุ่มเล็ก คือ กรอสมิเชล 'Gros Michel' คาเวนดิช 'Cavendish' และ กล้วยครั้ง กล้วยนาก (Red or Green Red) ในประเทศไทยมีกล้วยหอมทอง

กลุ่ม AB (AB Group) ลักษณะต้นพอม อ่อนแอ ผลมีเนื้อหวาน เนื้อสีขาว ทนต่อโรคตายพรายและโรคใบจุด กล้วยชนิดนี้ไม่มีทั่วไปในประเทศไทย แต่มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ได้นำเข้ามาเมื่อปี พ.ศ. 2510 และ พ.ศ. 2532 จึงไม่มีชื่อภาษาไทย เรียกสั้น ๆ ว่า กล้วยเนย์ 'Ney pooven' มีถิ่นกำเนิดแถบอินเดีย และปลูกกันบ้างในแหล่งอื่นๆ มีการกระจายพันธุ์กว้าง แต่ไม่มีพันธุ์ที่สำคัญ ส่วนใหญ่ปลูกเพื่อการศึกษาเท่านั้น ทางใต้อินเดียยังมีพันธุ์ที่อยู่ใน กลุ่ม AB คือ 'Kunnan' พบเป็นกลุ่มเล็ก ๆ

กลุ่ม AAB (AAB Group) เป็นกล้วยที่มีผลขนาดใหญ่ มีแป้งมากเมื่อสุก สามารถรับประทานสด มีเนื้อหวานสีส้มอมเหลือง ทนต่อโรคตายพราย และใบจุด กล้วยในกลุ่มนี้มีหลายชนิดพบในประเทศ แอฟริกาตะวันออก ปาปัวนิวกินี อินโดนีเซีย อินเดีย บราซิล และมาเลเซีย เป็นต้น เช่น ในมาเลเซียเรียกว่า 'Pisasng Raja' แต่ในแหล่งเพาะปลูกอื่นมีชื่อเรียกต่างออกไป ในประเทศไทย ได้แก่ กล้วยกล้วย

กลุ่ม ABB (AAB Group) ชื่อทั่วไปเรียกว่า 'Bluggoe' เป็นพันธุ์ที่แข็งแรง ผลใหญ่ มีเหลี่ยม ระยะระหว่างหวีห่าง ผลค่อนข้างตรง มีแป้งมาก เป็นพันธุ์แข็งแรงทนทาน ถ้าได้รับการผสม

อาจได้เมล็ด แต่ไม่ทนโรคตายพราย ในประเทศไทยพบหลายชนิด ได้แก่ กล้วยหักมุก กล้วยเทพรส และ กล้วยน้ำว่า

กลุ่ม BBB (BBB Group) ลักษณะลำต้นเทียมสูง 3-4 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลางมากกว่า 15 เซนติเมตร สีของกาบลำต้นเทียมด้านนอกสีเขียว ไม่มีปื้นดำ กาบด้านในสีเขียว เครือหนึ่งมีประมาณ 8 หวีขึ้นไป ผลอ้วนป้อมขนาดเท่ากล้วยตานี ปลายผลห่อ ก้านผลยาว ผลเมื่อสุกจะเป็นสีเหลือง เนื้อสีเหลืองอมส้ม เมื่อสุกงอมมีรสหวาน เนื้อในมีแป้งมาก บางผลมีเมล็ด พบในประเทศฟิลิปปินส์ ได้มีการจำแนกพันธุ์ได้แก่ Saba, Abuhon, Cardaba, Inabaniko, Turangkog, Sabang, Puti, Mundo, Gubao, Bigihan, Pa-a-Dalage และ Saba Sa Hapon ในประเทศไทยกล้วยเล็บช้างกุดจัดอยู่ในกลุ่ม BBB เกิดจากการผสมระหว่างกล้วยเทพรส และกล้วยตานี

สถานการณ์ตลาดกล้วยในประเทศไทย

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2558) รายงานว่าพื้นที่การผลิตกล้วยมีการปลูกมากที่สุดคือ ทวีปเอเชีย รองลงมาคือ อเมริกาใต้และอเมริกากลาง สำหรับทวีปแอฟริกันั้นกล้วยที่ผลิตส่วนใหญ่เป็นกล้วยกล้วย จากการสำรวจของ FOA ผลผลิตกล้วยในปี พ.ศ. 2555 มีประมาณ 102 ล้านตัน แบ่งพื้นที่ปลูกกล้วยของโลก แบ่งออกเป็น 3 เขตด้วยกัน คือ

- 1) เอเชียแปซิฟิก ได้แก่ ประเทศออสเตรเลีย ปาปัวนิวกินี จีน ไต้หวัน ฟิลิปปินส์ ไทย เมียนมาร์ เวียดนาม ลาว กัมพูชา อินเดีย อินโดนีเซีย
- 2) ลาตินอเมริกาและแคริบเบียน คือกลุ่มในอเมริกากลางและอเมริกาใต้ เช่น ประเทศบราซิล โคลัมเบีย คอสตาริกา เป็นต้น ส่วนใหญ่ปลูกกล้วยหอมคาเวติส
- 3) แอฟริกา มีสาธารณรัฐคองโก ไควเวิร์ค โซมาเลีย เป็นต้น

แม้ว่าในอดีตการปลูกกล้วยส่วนใหญ่ในเอเชียเป็นการบริโภคในครัวเรือนและท้องถิ่นมากกว่า แต่ในปัจจุบันได้มีการปลูกกล้วยเป็นระบบอุตสาหกรรมเพื่อบริโภคสดและแปรรูป โดยเฉพาะกล้วยหอมทองเป็นพืชเศรษฐกิจในประเทศไทยที่ได้รับความนิยมแบบกินผลสด ปัจจุบันมีการส่งออกไปทั่วโลกประมาณ 10 ประเทศ เป็นที่นิยมในตลาดขนาดใหญ่ คือ ญี่ปุ่น เนื่องจากกล้วยหอมทองมีรสหวานหอม และปลอดภัย

ประเทศไทยมีคู่ค้าด้านกล้วยหอมทองที่สำคัญ คือ ญี่ปุ่น ฮองกง และจีน ส่วนคู่แข่งที่สำคัญคือ ฟิลิปปินส์ เอกวาดอร์ เบลีซ และคอสตาริกา โดยประเทศที่มีการส่งออกกล้วยหอมทองมากที่สุดในโลก คือ อินเดีย 24,869,490 ตันต่อปี รองลงมา คือ จีน 10,550,000 ตันต่อปี และ ฟิลิปปินส์ 9,225,998 ตันต่อปี (เบญจมาศ, 2558)

ในปี 2558 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกกล้วยหอมทั้งประเทศ 34,018 ไร่ มีผลผลิตรวม 113,926 ตัน ใช้บริโภคภายในประเทศ 110,629 ตัน มีปริมาณการส่งออกต่างประเทศเพียง 3,297 ตัน คิดเป็นมูลค่าการส่งออก 99.17 ล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2558) แม้ว่าในปัจจุบันความต้องการจากประเทศญี่ปุ่นโดยมีปริมาณ 8,000 ตันก็ตาม

โรคในกล้วยหอมทองที่มีผลต่อการส่งออกกล้วย

กรมส่งเสริมการเกษตร (2558) รายงานว่า โรคที่สำคัญและระบาดอย่างมากทำให้ผลผลิตเสียหาย มี 2-3 โรคที่สำคัญที่ทำลายผลผลิตกล้วยหอมทองส่วนใหญ่ คือ

โรคตายพราย เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* ลักษณะของโรคตายพราย คือเชื้อจะแฝงตัวเข้าสู่พืชทางราก และแพร่กระจายสู่ท่อลำเลียงน้ำ ทำลายลำต้นขยายเป็นวงกว้าง เกิดลักษณะใบเหลืองและทำให้เกิดอาการเนื่อเยื่อตายเป็นสีน้ำตาลในท่อลำเลียงของลำต้นเทียมของกล้วย และลุกลามขึ้นสู่ก้านใบ โคนใบแก่ด้านนอกมีสีซีดเหลือง และผืนใบเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลโดยเริ่มจากขอบใบเข้าสู่กลางใบและใบหักพับภายใน 1-2 สัปดาห์ และในที่สุดลำต้นเทียมจะยืนต้นตายหรือล้มตายลงไป ซึ่งต่างจากต้นปกติที่เนื่อเยื่อเหล่านี้มีสีขาว โรคนี้สามารถแพร่กระจายในบริเวณเพาะปลูกเกิดความเสียหายทั่วทั้งแปลงปลูก ต้องเผาทำลายต้นที่เกิดโรคตายพรายเพื่อป้องกันการระบาด ส่งผลให้เกษตรกรมีต้นทุนการผลิตที่สูงขึ้นในการกำจัดโรค เกษตรกรจึงหันมาใช้ต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเนื่องจากเป็นต้นที่ปลอดโรค เพื่อให้ได้ต้นกล้วยที่มีคุณภาพสม่ำเสมอในทุกต้น

โรคใบด่าง ซึ่งเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อไวรัส Banana bract mosaic virus (BBMV) โรคนี้ไม่รุนแรงเท่ากับโรคตายพราย ลักษณะการเกิดโรคใบจะเกิดเป็นรอยด่าง มีลักษณะเป็นขีดสีเหลืองที่มีขนาดไม่แน่นอน และอาจเกิดเชื่อมต่อเนื่องกัน ทำให้เห็นเป็นรอยด่างเป็นทางยาวขนานไปกับเส้นใบ ใบที่ยังเจริญไม่เต็มที่จะเห็นลักษณะอาการได้ชัดเจน สำหรับบนใบแก่จะเกิดลักษณะอาการดังกล่าวมากบนเส้นกลางใบ หรือก้านกลางใบ แล้วจะขยายไปสู่แผ่นใบและขอบใบ เมื่อโรคเกิดความรุนแรงจะมีผลให้ใบขาดสีเขียวหรือคลอโรฟิลล์มากยิ่งขึ้น จึงทำให้ต้นกล้วยชะงักการเจริญเติบโต ถ้าเกิดเป็นกับต้นกล้วยที่มีอายุน้อยภายในลำต้นเกิดเน่าแห้งเป็นแท่ง ๆ โรคนี้มักเกิดในฤดูหนาว ส่วนในฤดูร้อนและฤดูฝนจะเกิดโรคน้อย วิธีการกำจัดคือ ใช้สารเคมีพ่น หรือ ควรกำจัดพืชในแปลงก่อนปลูกออกให้หมด (Thomas et al. 2000)

นอกจากโรคที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว ยังมีโรคชั่วคราวที่เกิดจากเชื้อราที่เป็นสาเหตุ คือ *Lasiodiplodia theobromae*, *Fusarium oxysporum*, *Collectotrichum musae*, *Pestalotiopsis* sp. และ *Phomopsis* sp. โดยจะเข้าไปทำลายบริเวณชั่วคราวทำให้เนื้อเยื่อ

เปลี่ยนเป็นสีดำเน่าลูกกลมสุกก่อนของผล ทำให้ผลหลุดร่วงได้ง่าย ส่งผลให้คุณภาพของกล้วยหอมทองลดลง

วิธีการป้องกันโรคของกล้วยที่ดีที่สุดคือการเลือกใช้พันธุ์ต้านทานโรค ซึ่งทำได้ด้วยการสร้างพันธุ์ใหม่จากการกลายพันธุ์ การใช้พันธุ์วิศวกรรม การปรับปรุงพันธุ์ แต่การสร้างพันธุ์ต้านทานโรคนี้ผู้ดำเนินการส่วนใหญ่เป็นหน่วยงานของรัฐ และระยะเวลาในการสร้างพันธุ์ใหม่จะใช้เวลานานมาก ผู้ปลูกจึงนิยมใช้ต้นปลอดโรคที่ได้จากเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาทำ meristem culture แล้วเพิ่มปริมาณต้นที่ปลอดโรค (Helliot et al., 2003)

แหล่งเพาะปลูกกล้วย

กล้วยสามารถปลูกได้ในทั่วทุกภาคของประเทศไทย ส่วนแหล่งที่ปลูกกล้วยหอมทองที่สำคัญ ได้แก่ ปทุมธานี เพชรบุรี ชุมพร หนองคาย และสระบุรี มีพื้นที่ในการเพาะปลูกทั้งหมดมากกว่า 5,000 ไร่ ผลผลิตมากในเดือนเมษายนและธันวาคม (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2558)

แต่อย่างไรก็ตามการค้าเพื่อการส่งออกกล้วยหอมทองในปัจจุบัน ประเทศคู่ค้านำเข้าได้มีการกำหนดมาตรฐาน คุณภาพนำเข้าในระดับสูง เพื่อใช้เป็นมาตรการจำกัดการนำเข้าที่มีใช้ภาษี เช่น มาตรการด้านสุขอนามัย คำรับรองการนำเข้า ข้อกำหนดทางเทคนิคการค้า การจำกัดจุดนำเข้า ระบบการรับรอง คุณภาพความปลอดภัย ซึ่งปัจจุบันประเทศไทยมีมาตรการการส่งออกกล้วยหอมมากขึ้น ดังนี้

1. เพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกล้วยหอมคุณภาพ โดยถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตที่เหมาะสม (GAP)
2. จัดระบบซื้อขายการทำการเกษตรแบบมีสัญญา (contract farming)
3. ขยายการส่งออกโดยเน้นตลาดจีน พร้อมทั้งรักษาตลาดเดิม
4. สร้างมูลค่าเพิ่ม โดยเน้นการผลิตกล้วยแบบเกษตรอินทรีย์ พัฒนารัฐภัณฑ์ และการสร้างตราสินค้า

การขยายพันธุ์กล้วย

การขยายพันธุ์กล้วยมีหลายวิธีขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ในการใช้ประโยชน์ ได้แก่

1. การขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด กล้วยส่วนใหญ่ไม่มีเมล็ด เพราะผลสามารถเกิดขึ้นได้โดยไม่ต้องผสมพันธุ์ แต่มีกล้วยบางชนิดมีเมล็ดจำนวนมาก เช่น กล้วยตานี กล้วยป่า และกล้วยน้ำว้า

วัตถุประสงค์ของการขยายพันธุ์กล้วยด้วยการเพาะเมล็ดส่วนใหญ่ เพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ ซึ่งต้องนำพันธุ์ต่าง ๆ มาผสมกันแล้วได้เมล็ดลูกผสมขึ้นมา

เมล็ดกล้วยใช้ระยะเวลาในการงอกที่ช้า เนื่องจากมีเปลือกแข็ง ใช้เวลาประมาณ 26-28 วัน ในการงอก ดังนั้นเพื่อให้งอกเร็วขึ้น ควรทำให้เปลือกบางลง ด้วยการแช่กรดซัลฟิวริกที่เข้มข้น นาน 15 นาที หรือการฝนเมล็ดด้วยเครื่องผสมดิน แต่จะใช้วิธีใดก็ตามควรเลือกเมล็ดที่มาจากผลแก่ จะทำให้เมล็ดงอกดี การขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ดจึงไม่เป็นที่นิยมนอกจากมีการปรับปรุงพันธุ์กล้วย ซึ่งต้องนำพันธุ์ต่าง ๆ มาผสมกัน

2. การขยายพันธุ์จากหน่อ ลักษณะหน่อที่นำมาขยายพันธุ์ ได้แก่ เหง้าของหน่อกล้วยเก่าที่ให้ผลผลิตแล้ว และเหง้าของหน่อกล้วยอ่อนที่มีอายุระหว่าง 3-6 เดือน โดยการผ่า 2, 3 หรือ 4 ส่วนตามแนวยาวเท่า ๆ กัน (ขึ้นอยู่กับขนาดของหน่อกล้วย) ขนาดชิ้นละประมาณ 2 นิ้ว ตัดแต่งแต่ละชิ้นส่วน จากนั้นจึงแช่น้ำยาเร่งรากและน้ำยากันรา โดยปลูกในถุงดำขนาด 4 x 8 นิ้ว แล้วใส่ซีเมนต์กลับให้ได้เกือบครึ่งของถุง รดน้ำทุกเช้า หลังจากนั้น 3 สัปดาห์ยอดอ่อนเริ่มแทงออกจากชิ้นส่วน ลักษณะการออกหน่อจะมี 2 ลักษณะ คือ แทงยอดตรงกลางชิ้นส่วน และแทงยอดออกทางตาข้างของชิ้นส่วน (สรสรเสรี, 2553)

ต้นทุนการผลิตหน่อจากเหง้ากล้วยเก่าที่ให้ผลผลิตแล้วประมาณ 3.57 บาท โดยค่าใช้จ่ายส่วนใหญ่เป็นค่าแรงงานในการผ่าหน่อและค่าแรงในการจ้ำขุดหน่อ ส่วนการทำหน่อจากเหง้ากล้วยอ่อนจะมีค่าใช้จ่าย 3.94 บาท

แหล่งจำหน่ายหน่อพันธุ์กล้วยหอมทองที่สำคัญในประเทศไทย คือ ปทุมธานี เพชรบุรี ชุมพร หนองคาย สระบุรี ซึ่งเป็นแหล่งปลูกกล้วยหอมทองเกรด เอ ที่ให้ผลผลิตสูง รสชาติดี และผลโต สามารถหาซื้อหน่อพันธุ์กล้วยหอมทอง เกรด เอ ราคาหน่อละ 11-17 บาท และสามารถนำไปขยายพันธุ์ (สวนแม่ละออทำยาง, 2558)

3. การขยายพันธุ์โดยเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกล้วยเพื่ออุตสาหกรรม ข้อดีของกล้วยที่ขยายพันธุ์ด้วยวิธีนี้คือ ได้ต้นกล้าที่มีขนาดต้นเท่ากัน ใช้ระยะเวลาในการผลิตต้นเร็วกว่าการขุดหน่อปกติ กล้วยจะตกเครือในเวลาเดียวกัน ได้ต้นพันธุ์ที่ปลอดโรคจริง และได้ต้นพันธุ์แท้เหมือนแม่พันธุ์ ในต่างประเทศที่ปลูกกล้วยเป็นการค้าระดับส่งออก เช่น ฟิลิปปินส์ ไต้หวัน ออสเตรเลียและคอซตาริกา ได้นำเอาวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้ในการขยายพันธุ์กล้วยในเชิงการค้าได้ดีสามารถผลิตต้นพันธุ์กล้วยจำนวนมากในระยะเวลาสั้นและต้นที่ได้มีความสม่ำเสมอปราศจากโรค

เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ เทคโนโลยีในการขยายพันธุ์พืชให้มีปริมาณมาก ๆ ได้พืชพันธุ์ที่ปลอดโรค และให้ผลผลิตสูง เป็นวิธีการที่ใช้ชิ้นส่วนของพืชมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตภายใต้สภาพที่ควบคุมความสะอาดแบบปลอดเชื้อ อุณหภูมิ และแสง เมื่อชิ้นส่วนนั้นเจริญและพัฒนาเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ จากนั้นจึงนำไปออกปลูกในสภาพธรรมชาติต่อไป (นพมณี, 2545)

ขั้นตอนการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ขั้นตอนการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สามารถแบ่งออกได้เป็น 5 ขั้นตอน (Debergh and Maene, 1981) ได้แก่

ระยะที่ 0 การเตรียมต้นแม่พันธุ์

การคัดเลือกต้นแม่พันธุ์ เป็นการหาต้นพันธุ์ของพืชที่ต้องการนำมาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต้องการ โดยต้องเป็นต้นที่สามารถใช้เป็นต้นแม่พันธุ์ที่ดี ชิ้นส่วนพืชที่อยู่ในช่วงเจริญเติบโต เช่น ยอดอ่อน เมล็ด ตาข้าง ปลายรากแล้วแต่ชนิดของพืชนั้น ๆ ควรต้องตรวจสอบสายพันธุ์ที่นำมาปลูกว่าต้นแม่พันธุ์นั้นมีแหล่งที่มาและเป็นพันธุ์ที่ต้องการแท้จริง อีกทั้งควรตรวจสอบสภาพแวดล้อมบริเวณที่เพาะปลูกว่ามีความปลอดเชื้อมากน้อยเพียงใดซึ่งจะส่งผลต่อการจัดการในขั้นตอนต่อไป คือ การทำความสะอาดพื้นผิวภายนอกหรือการฟอกฆ่าเชื้อ (นพมณี, 2545)

ระยะที่ 1 การชักนำการเกิดต้น

ระยะนี้ คือ การทำให้ชิ้นส่วนปราศจากเชื้อที่ติดมาบนพื้นผิวจนชิ้นส่วนสามารถเจริญเติบโตต่อไปได้ การเตรียมชิ้นส่วนตั้งต้น ขึ้นอยู่กับสภาพและแหล่งที่มาของชิ้นส่วน ก่อนการฟอกฆ่าเชื้อด้วยขั้นตอนของการฟอกฆ่าเชื่อนั้นเริ่มจากการนำชิ้นส่วนตั้งต้นมาตัดแต่งให้ได้ขนาดที่ต้องการ และง่ายต่อการนำไปฟอกฆ่าเชื้อในสภาพปลอดเชื้อ นำชิ้นส่วนที่ต้องการมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีต่าง ๆ เช่น การล้างผ่านน้ำไหล เนื่องจากชิ้นส่วนอาจจะอยู่ในดินหรือสัมผัสกับเชื้อจุลินทรีย์โดยตรง จึงควรล้างมีดินติดอยู่ที่บริเวณชิ้นส่วนออกให้หมดก่อนนำมาฟอกฆ่าเชื้อหรือต้องแช่ด้วยเอทานอล 70% ก่อนการฟอก ส่วนการฟอกฆ่าเชื้อต้องอาศัยสารเคมีที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อราและแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งควรคำนึงถึงสภาพชิ้นส่วนและเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อ นอกจากนี้ในระยะนี้อาจ

เกิดสารฟิโนลิกตรงบริเวณขึ้นส่วน ทำให้อาหารเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มและเป็นพิษ วิธีแก้ไข คือ อาจเปลี่ยนอาหารบ่อยขึ้น หรือใช้อาหารเหลวซึ่งช่วยจัดผลของสารฟิโนลิกได้ (รังสฤษฎ์, 2541)

ระยะที่ 2 ระยะการเพิ่มปริมาณต้น

จุดประสงค์ของระยะนี้คือ ต้องการเพิ่มปริมาณต้นที่กระตุ้นได้แล้วให้มีปริมาณมากขึ้นในขวด รวมทั้งเป็นการเก็บรักษาต้นเพื่อใช้เป็นต้นพันธุ์หลักในรอบการผลิตใหม่ ปัจจัยสำคัญ ได้แก่ สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ช่วยกระตุ้นในการเพิ่มปริมาณต้น ต้นที่ได้ในระยะนี้อาจอยู่ในรูปของยอดที่ไม่มีราก จากนั้นจึงจะนำไปทำให้ต้นยืดยาวหรือกระตุ้นให้ออกรากที่หลัง

ระยะที่ 3 การยืดยาวของต้นและการกระตุ้นหรือพัฒนาการออกราก

ต้นที่ได้จากระยะการเพิ่มปริมาณต้น มักจะเป็นต้นขนาดเล็กเนื่องจากผลของการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตที่เกิดการแตกต้นมากขึ้น จึงไม่สามารถนำไปย้ายปลูกในสภาพภายนอกได้ทันที ซึ่งต้องมีการยืดลำต้นให้สูงขึ้นเพื่อง่ายต่อการทำงาน และแข็งแรงพอที่จะออกสู่สภาพแวดล้อมภายนอกได้ วิธีการหนึ่ง คือ การย้ายต้นลงในอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต

ส่วนการชักนำให้เกิดรากขึ้นอยู่กับความต้องการของลูกค้า ในกรณีที่มีต้นมีรากอาจออกรากภายนอกขวดได้ หรือพันธุ์ที่เลี้ยงมีความสามารถในการเกิดรากยาก อาหารส่วนใหญ่ที่ใช้ชักนำการออกราก คือ อาหารที่เหมือนขั้นตอนการเพิ่มปริมาณต้นแต่ยกเว้นการเติมไซโตไคนิน

ระยะที่ 4 การปรับสภาพต้นและการย้ายปลูกต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ขั้นตอนการปรับสภาพต้นและการย้ายปลูกต้นที่ได้จากนี้มีความสำคัญเช่นกัน เพราะการย้ายต้นสู่สภาพแวดล้อมภายนอกถ้าหากไม่ระวังจะสูญเสียต้นเป็นจำนวนมาก เนื่องจากต้นหรือยอดที่เกิดขึ้นในขวดเคยอยู่ในสภาวะความเข้มแสงต่ำส่งผลให้พืชไม่สังเคราะห์แสงหรือสังเคราะห์แสงน้อยมาก จึงต้องปรับสภาพให้พืชสามารถสังเคราะห์แสงเองได้ (นพมณี, 2545)

ขั้นตอนการขยายพันธุ์กล้วยด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ขั้นตอนการขยายพันธุ์ 5 ระยะตามที่กล่าวมาข้างต้นนี้สามารถนำมาปรับใช้กับการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์กล้วยหอมทองด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวแบบขวดแผ่ในระดับอุตสาหกรรม ได้ดังนี้

ระยะการชักนำการเกิดต้นกล้วย

ในระยะเริ่มต้นการนำหน่อกล้วยมาขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะกล้วยเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นมักเกิดปัญหาในการฟอกฆ่าเชื้อ ขึ้นส่วนตั้งต้นส่วนยอดของกล้วยซึ่งเป็นจุดกำเนิดของการพัฒนาเป็นต้นอยู่ใกล้บริเวณพื้นดินและสัมผัสกับเชื้อจุลินทรีย์โดยตรง มีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้สารเคมีต่าง ๆ ที่มีประสิทธิภาพในการฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ สารเคมีที่นิยมใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อ ได้แก่ HgCl_2 มีประสิทธิภาพในการฟอกฆ่าเชื้อได้สูง Titov et al. (2006) รายงานว่า การฟอกฆ่าเชื้อขึ้นส่วนตาดอกกล้วยโดยใช้ HgCl_2 0.1% นาน 6 นาที มีประสิทธิภาพในการฟอกฆ่าเชื้อพื้นผิวตาดอกกล้วยได้ 100% สารเคมีอีกชนิดที่นิยมนำมาใช้มาก ได้แก่ คลอโรกซ์ (clorox) ซึ่งเป็นชื่อทางการค้า มีส่วนประกอบของสารฆ่าเชื้อที่สำคัญ คือ NaClO (sodium hypochlorite; NaClO) ประมาณ 5.25 % ซึ่งมีคุณสมบัติสามารถฆ่าหรือยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อได้ดี ให้เปอร์เซ็นต์ความปลอดเชื้อสูง สามารถหาซื้อได้ง่าย ราคาถูก มีวิธีการใช้ง่าย มีงานวิจัยของการนำคลอโรกซ์มาใช้ จุลภาค และคณะ (2533) ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยหอมพันธุ์ Grand Nain โดยนำปลายยอดของกล้วยขนาด 1 ลูกบาศก์นิ้ว มาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยคลอโรกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที ตัดแบ่งตามยาวออกเป็น 4 ส่วน เลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (1962) ซึ่งเติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเนื้อเยื่อมีการเพิ่มขนาดเปลี่ยนเป็นสีเขียว ตายอดและตาข้างที่อยู่ระหว่างชอกใบ มีการเจริญเติบโตเป็นต้นกล้วยขนาดเล็กได้ภายในเวลา 2 เดือน เมื่อนำเอาต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมาตัดแบ่งเป็น 2 ส่วนตามยาวและย้ายลงเลี้ยงบนอาหารใหม่ พบว่าภายในเวลา 1 เดือนสามารถเพิ่มปริมาณได้ 2.44 ต้นต่อจำนวนหน่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยง 1 หน่อ ทั้งนี้คลอโรกซ์ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อขึ้นส่วนกล้วยหลายสายพันธุ์ (Mudiyansele and Herath, 2016; อรุณี, 2557; Hui et al., 2012 และ Jafari et al., 2011) Goswami and Handique (2013) รายงานว่าการฆ่าเชื้อพื้นผิวของหน่อกล้วยในระยะเตรียมต้น 3 สายพันธุ์ ด้วย NaClO 1.0% ร่วมกับ HgCl_2 0.1% นาน 7 นาที มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของหน่อกล้วยน้อยที่สุดทั้ง 3 สายพันธุ์คือประมาณ 10-25%

นอกจากนี้ยังมีสารฆ่าเชื้ออีกชนิดหนึ่ง คือ PursueTM ซึ่งเป็นชื่อทางการค้าของสารละลายที่มีส่วนผสมของสารฆ่าเชื้อหลายชนิด Jain and Bhaduria (2008) รายงานว่า การใช้เพอร์ซู่เพื่อศึกษาการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา 11 ชนิด และแบคทีเรีย 5 ชนิด พบว่าเพอร์ซู่ที่ความเข้มข้น 0.6%, 1% และ 2% สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus sydowii*, *Trichoderma koningii*, *Paecilomyces* sp., *Fusarium oxysporum* และยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทุกชนิด

ระยะเพิ่มปริมาณต้นกล้วย

ในระหว่างการเพิ่มปริมาณ ต้องมีการหาชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมในการที่จะเพิ่มปริมาณต้น และนอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับสายพันธุ์กล้วยที่แตกต่างกันด้วย จึงมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มปริมาณต้นกล้วย ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

1. สารควบคุมการเจริญเติบโต

ในงานวิจัยส่วนใหญ่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA และความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ทำให้เกิดต้นใหม่มากที่สุด Al-Amin et al. (2009) ได้ทำการเพิ่มปริมาณกล้วยหอมด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชโดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดและความเข้มข้นต่าง ๆ จากการศึกษาในระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต benzylaminopurine(BAP) ที่ความเข้มข้น 0.0, 2.5, 5.0, 7.5 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า BAP 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดที่เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 10, 20 และ 30 วัน 0.75, 2.75 และ 6.25 ยอด ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอกล้วย Uma et al. (2010) ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอและพัฒนาเป็นต้นกล้วย พบว่าเอ็มบริโอที่มีเจริญได้ 90 เปอร์เซ็นต์ มาเพาะเลี้ยงในสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ร่วมกับ IAA สามารถเกิดเป็นต้นได้ แต่เอ็มบริโอที่มีการพัฒนาได้ 100 เปอร์เซ็นต์ กลับสามารถเกิดเป็นต้นในอาหารสูตรที่ไม่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต

แต่อย่างไรก็ตาม ระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตมีผลต่อการกลายพันธุ์ของกล้วยได้ จึงควรใช้ในปริมาณที่เหมาะสม หากมากเกินไปอาจส่งผลต่อการกลายพันธุ์กล้วย นอกจากนี้รอบการตัดถ่ายก็สำคัญ Sahijram et al. (2003) รายงานว่า ความผิดปกติของกล้วยมี 2 ลักษณะ คือ ผิดปกติในระดับ DNA และ ลักษณะสัณฐานภายนอก ความผิดปกติที่แสดงออกภายนอกแสดงออกมาจาก โครโมโซม ควรหลีกเลี่ยงการตัดถ่ายเนื้อเยื่อเกินกว่า 8 รอบ และความแปรปรวนทางพันธุกรรมของกล้วยในระหว่างการเพิ่มปริมาณผลมาจากการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในปริมาณความเข้มข้นที่มากเกินไป

สารควบคุมการเจริญเติบโตที่สำคัญอีกตัวหนึ่งคือ thidiazuron (TDZ) ชื่อเต็มว่า N-phenyl-N'-1,2,3-thidiazol-5-yl urea เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน ซึ่งออกฤทธิ์ต่อการเจริญเติบโตของพืช และมีผู้สนใจนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชอย่างกว้างขวาง คุณสมบัติของ TDZ นั้นเป็นสารประกอบที่ละลายน้ำได้น้อย แต่ละลายในเอทานอลและตัวทำละลายอินทรีย์อื่น ๆ ได้ในระดับที่แตกต่างกัน (Guo et al., 2011) Makara et al. (2010) รายงานว่า TDZ มีผลสะสมในยอดทำให้สามารถเกิดต้นได้อีกแม้จะเพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตเมื่อรอบการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้น Murthy et al. (1998) พบว่า TDZ ไม่ได้ถูก metabolize ในแคลลัสของ *Phaseolus lunatus* ใน 48 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง นอกจากนี้ยังมีรายงานถึง

ผลของ TDZ ต่อสรีรวิทยาที่พืช เช่น การงอกของเมล็ด การเร่งการเกิดของตา การชักนำและการกระตุ้นการแตกหน่อ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า การตอบสนองต่อ TDZ ดีกว่า BA ในการกระตุ้นในกล้วย (Victor et al., 1999) ส่วนจุลภาค และคณะ (2533) ได้ศึกษาการเติบโตและเพิ่มปริมาณต้นของกล้วยหอมพันธุ์ 'Grand Nain' โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ พบว่าเนื้อเยื่อมีการเพิ่มขนาด เปลี่ยนเป็นสีเขียว ตายอดและตาข้างที่อยู่ระหว่างซอกใบ มีการเจริญเติบโตเป็นต้นกล้วยขนาดเล็กได้ภายในเวลา 2 เดือน เมื่อนำเอาต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงมาตัดแบ่งเป็น 2 ส่วนตามยาวและย้ายลงเลี้ยงบนอาหารใหม่ พบว่าภายในเวลา 1 เดือนสามารถเพิ่มปริมาณได้ 2.44 ต้นต่อจำนวนหน่อที่ได้จากการเพาะเลี้ยง 1 หน่อ

2. สายพันธุ์กล้วย

การขยายพันธุ์กล้วยในระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชขึ้นอยู่กับสายพันธุ์กล้วย Bhosale et al. (2011) ได้ศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดพันธุ์กล้วยที่ต่างกัน 3 ชนิด คือ 'Shrimanti', 'Ardhapuzi' และ 'Basrai' นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหาร สูตร MS ที่เติม BAP ที่ระดับความเข้มข้น 3, 5, 7 และ 9 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้น นำมาตัดทุกๆ 30 วัน ปรากฏว่า BAP 7 มิลลิกรัมต่อลิตรมีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นกล้วยดีที่สุด แต่จำนวนยอดที่ได้แตกต่างกันตามสายพันธุ์ คือ กล้วยพันธุ์ 'Ardhapuzi' 6.2 ยอด รองลงมา 'Basrai' คือ 4.5 ยอด นอกจากนี้ Shirani et al. (2009) ได้ศึกษาการเพิ่มปริมาณกล้วยด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต 2 ชนิด ได้แก่ TDZ และ BAP ต่อพันธุ์กล้วย 5 ชนิด ได้แก่ 'Berangan Intan', 'Berangan' (AAA), 'Rastali', 'Nangka' (AAB) และ 'Baka Baling' (ABB) เพาะเลี้ยงยอดในสูตรอาหาร MS ร่วมกับ BAP 0, 11.1, 22.2, 33.3 และ 44.4 ไมโครโมลาร์ และ TDZ 0, 0.5, 2, 5 และ 7.5 ไมโครโมลาร์ พบว่า BAP 22.2 ไมโครโมลาร์ และ 33.3 ไมโครโมลาร์ สามารถเพิ่มจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนของ 'Berangan Intan', 'Rastali', 'Nangka' และ 'Baka Baling' ได้ดี แต่ BAP ที่ระดับความเข้มข้นสูงกว่า 33.3 ไมโครโมลาร์ พบยอดที่ผิดปกติ ส่วน TDZ ที่สูงถึง 2 ไมโครโมลาร์ ให้จำนวนยอดต่อชิ้นส่วนสูงเหมาะต่อการเพิ่มปริมาณต้นของสายพันธุ์ 'Baka Baling', 'Rastali' และ 'Nangka' แต่หากใช้ TDZ สูงถึง 5 ไมโครโมลาร์ จะพบยอดที่มีลักษณะผิดปกติ จากงานวิจัยดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์กล้วยมีผลต่อการตอบสนองของระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการ

ระยะการยืดยาวและการออกรากของกล้วย

ขั้นตอนก่อนการออกปลูกต้องชักนำให้ต้นกล้วยออกรากในสภาพปลอดเชื้อ จึงจะพร้อมต่อการออกปลูก Waman et al. (2014) ศึกษาแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการออกราก โดยทำการศึกษาค้นคว้าของ น้ำตาล 4 ชนิดต่อการออกรากกล้วยพันธุ์ 'Silk' ได้แก่ กลูโคส ฟรุคโตส แมนนิทอล และ ซูโครส ที่ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์รวมกับอาหารสูตร MS ดัดแปลง พบว่า ซูโครส 3

เปอร์เซ็นต์มีอัตราการเกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนงานวิจัยของ นิพิช และพีระศักดิ์ (2551) โดยทำการศึกษาการชักนำต้นอ่อนให้เกิดรากบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 3 ระดับ คือ 0, 0.05 และ 0.10 ppm ร่วมกับผงถ่าน 2 ระดับ คือ 0 และ 1 กรัมต่อลิตร ระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตรที่เติม NAA 0.10 ppm เพียงอย่างเดียวมีจำนวนราก 4.47 ราก และมีเส้นผ่านศูนย์กลางรากเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 0.91 มิลลิเมตร

ระยะออกปลูกและการปรับสภาพต้น

การปลูกกล้วยต้องคำนึงถึงสภาพแวดล้อมที่อยู่บริเวณแปลง ดิน ฟ้า อากาศ รวมถึงวิธีการปลูก การเตรียมพื้นที่ปลูกและพันธุ์กล้วยที่ดี ตลอดจนการดูแลรักษาเพื่อให้ได้ผลผลิตตามที่ต้องการ กัลยาณี และคณะ (2558) ได้ทำการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของกล้วยน้ำว้า 8 พันธุ์ในประเทศไทยที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเยื่อพืช โดยนำต้นพันธุ์ปลูกลงในแปลงทดลองที่มีระยะปลูก 3x3 เมตร ในหลุมขนาด 50x50x50 เซนติเมตร โดยใช้ปุ๋ยซีไกรรองกันหลุมประมาณหลุมละ 3 กิโลกรัม ให้น้ำแบบมินิสปริงเกอร์ทุก 3-5 วัน กำจัดวัชพืชโดยการถากโคนในระยะแรก เมื่อต้นโตจึงใช้สารเคมีกำจัดวัชพืชจำพวกพาราควอต ให้ปุ๋ย 16-16-16 จำนวน 150 กรัมต่อต้น ในเดือนที่ 1, 2, 4, 5 และเมื่อกล้วยแทงปลี ส่วนเดือนที่ 3 และ 6 ใส่ปุ๋ยซีไกร 2-3 กิโลกรัมต่อต้น พบว่า อัตราการเจริญเติบโตของกล้วยน้ำว้าจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทุกพันธุ์ในเดือนที่ 4 มีอัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็ว ทั้งนี้ อาจเนื่องจากกล้วยสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้เหมาะสม และมีความพร้อมที่จะพัฒนาต้นสู่การสะสมอาหารเพื่อการเจริญเติบโตและให้ผลผลิต ส่วนในช่วงเดือนอื่น ๆ กล้วยน้ำว้าจะมีระยะการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นหรือลดลงแตกต่างกันไป ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดพันธุ์ของกล้วยนั้น ๆ

เทคโนโลยีขยายพันธุ์พืชด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์

ระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราว เป็นเทคโนโลยีที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากแบบเดิม โดยขึ้นส่วนพืชที่เพาะเลี้ยงสัมผัสอาหารทุกทิศทาง ลดต้นทุนในด้านแรงงาน และระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงสั้น อีกทั้งระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวสามารถตั้งเวลาในการให้อาหารแบบอัตโนมัติ ซึ่งจะแต่ละพืชจะให้อาหารความถี่ที่แตกต่างกัน นพมณี และคณะ (2553, 2555) ได้พัฒนาระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวขึ้นมาสามารถเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อเพิ่มปริมาณในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวแบบขวดแฝดจาก ขวด 24 ออนซ์ จนกระทั่งพัฒนามาเป็นถังขนาด 20 ลิตร สามารถผลิตพืชที่สำคัญ เศรษฐกิจในอุตสาหกรรมเกษตรของไทย ยกตัวอย่างเช่น พืชอุตสาหกรรมของประเทศไทย คือ อ้อย ปทุมมา (นพมณี และคณะ, 2548; 2552)

ปัจจุบันมีระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่นิยมนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช คือ ระบบ TIB (Alvard et al., 1993) ซึ่งสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการขยายพันธุ์ได้มากยิ่งขึ้น และมีข้อได้เปรียบเหนือการเพาะเลี้ยงแบบดั้งเดิมในระบบอาหารแข็ง คือ ผลิต้นได้เป็นจำนวนมากขึ้นและลดต้นทุนการผลิตในด้านแรงงานซึ่งสูงกว่า 60-70% จึงทำให้มีการใช้ระบบ TIB ในงานขยายพันธุ์พืชเศรษฐกิจอย่างแพร่หลาย เช่น มันฝรั่ง (Jiminez et al., 1999), อ้อย (นพมณี และคณะ, 2553, 2555) และ สับปะรด (Firoozabady and Gutterson, 2003) เป็นต้น

ระบบการผลิตต้นพืชด้วยเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่ใช้อาหารแข็ง เป็นวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ใช้กันอยู่ทั่วไป แต่วิธีการเพาะเลี้ยงพืชโดยใช้อาหารแข็งนั้น ใช้ระยะเวลาการเพาะเลี้ยงนานกว่าการใช้อาหารเหลว ใช้พื้นที่เพาะเลี้ยงมากกว่าเนื่องจากภาชนะอาหารแข็งสามารถบรรจุต้นได้เพียง 5-10 ต้นต่อภาชนะเท่านั้น อีกทั้งจำเป็นต้องอาศัยแรงงานที่มีความชำนาญในการตัดและการปักต้นไม้ลงในขวดที่มีอาหารเพื่อให้พองต้นไม่ให้ตั้งตรงได้ ซึ่งวิธีการดังกล่าวนี้ต้องอาศัยแรงงานจำนวนมากจึงทำให้มีต้นทุนในค่าแรงงานสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งค่าแรงในส่วนของการตัดถ่ายชิ้นส่วนพืชลงในอาหารแข็ง เพราะต้องใช้แรงงานที่มีความชำนาญและมีความรู้ ซึ่งมหาวิทยาลัยแม่โจ้ได้ประสบความสำเร็จในการพัฒนาระบบ TIB โดย นพมณี และคณะ (2548, 2553) ได้เพิ่มศักยภาพในการผลิตต้นจากระบบ TIB ขนาด 700 มิลลิลิตร มาจนถึงระบบ TIB ขนาดใหญ่ 20 ลิตร นพมณี และคณะ (2548) ได้ศึกษาการยืดยาวของต้นและการออกรากของปทุมมาเชียงใหม่พืงค์ ที่เลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวแบบขวดแฝดภายใต้สภาพปลอดเชื้อ เปรียบเทียบกับการเลี้ยงในอาหารแข็งและอาหารเหลว โดยการนำต้นปทุมมาที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS (1962) ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า การเพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวมีจำนวนต้นรวมต่อขวดสูงกว่าระบบอาหารแข็งประมาณ 15-17 เท่า การเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ให้จำนวนต้นรวมต่อขวดสูงถึง 933 ต้นต่อขวด ในขณะที่ต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งมีจำนวนต้นรวมเพียง 54.6 ต้นต่อขวด นอกจากนี้ นพมณี และคณะ (2553) สามารถผลิตต้นอ้อยในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวขนาดอุตสาหกรรมโดยใช้การควบคุมด้วยระบบคอมพิวเตอร์ในการให้อาหาร สามารถเพิ่มจำนวนต้นอ้อยได้ในระยะเวลาเพียง 3 สัปดาห์ ได้จำนวนต้น ไม่ต่ำกว่า 40,000 ต้น ต่อรอบการผลิต

สำหรับการใช้ระบบ TIB เพื่อขยายพันธุ์กล้วยนั้นมีการศึกษาโดย Roels et al. (2005) ได้ศึกษาปัจจัยการขยายพันธุ์กล้วยด้วยระบบ TIB ได้แก่ เวลาในการให้อาหาร (4, 12 และ 22 นาที) ให้ความถี่ในการให้อาหาร (3, 5 และ 7 ชั่วโมง) ร่วมกับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ BA, meta-topolin (MET) และ TDZ เปรียบเทียบกับอาหารแข็ง พบว่า ในอาหารที่เติม MET ที่ความเข้มข้น 44.4 ไมโครโมลาร์ มีประสิทธิภาพที่สุด อย่างไรก็ตามหากตัดถ่ายต้น ทุกๆ 28 วัน ต่อเนื่องนาน 6 รอบอัตราการขยายพันธุ์กล้วยจะลดลง ส่วนเวลาในการให้อาหารไม่มีผลต่ออัตราการ

ขยายพันธุ์ ในขณะที่ผลด้านคุณภาพต้นอื่นๆ เช่น ความสูงต้น จำนวนใบ และจำนวนรากของต้นที่เพาะเลี้ยงในทั้งสองระบบไม่มีความแตกต่างกัน

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นที่เพาะเลี้ยงด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์

การเพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์อีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญ คือ การให้แสงสว่างจากหลอดไฟ โดยหลอดไฟฟ้าที่ให้ความสว่างแก่พืชเพื่อการสังเคราะห์แสง นิยมใช้หลอดไฟที่เรียกว่า Gro-lux เพราะมีคุณสมบัติของการให้แสงสีแดงซึ่งเหมาะกับการสังเคราะห์แสงของพืช แต่หลอดชนิดนี้มีราคาค่อนข้างสูง จึงอาจใช้หลอดไฟฟลูออเรสเซนต์ชนิดธรรมดาที่ใช้กับอาคารบ้านเรือนก็ได้ ทั้งนี้ การติดตั้งหลอดไฟควรให้หลอดอยู่ห่างจากชั้นวางเนื้อเยื่อ ในระยะประมาณ 20 เซนติเมตร และ แต่ละหลอดอยู่ห่างกันประมาณ 30 เซนติเมตร นอกจากหลอดฟลูออเรสเซนต์แล้วปัจจุบันมีการนำเอาหลอดไฟชนิด LED (light-emitting diode) มาใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช Wilken et al. (2014) ได้ศึกษาผลของแสงที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณกล้วย ในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราว ระบบการให้แสง 2 ชนิด คือ หลอดฟลูออเรสเซนต์ และหลอด LED ความเข้มแสงเท่ากัน (40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที) โดยการให้อาหาร 4 ครั้งต่อวันครั้งละ 2 นาที่ ผลการทดลองพบว่าต้นที่เพาะเลี้ยงภายใต้แสงจากหลอด LED มีอัตราการเพิ่มปริมาณต้นได้ดีกว่าหลอดฟลูออเรสเซนต์ นอกจากนี้ Nguyen and Kozai. (2001) ทำการศึกษาการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนจากยอดเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกล้วยบนอาหารสูตร MS ที่เติม benzyladenine (BA) 22.2 ไมโครโมลาร์และ เพาะเลี้ยงที่ความเข้มของแสง 100 และ 200 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เก็บผลหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 28 วัน พบว่าที่ความเข้มแสง 200 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาทีที่มีการเจริญเติบโตของต้นได้ดีกว่าที่ความเข้มแสง 100 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที

บทที่ 3

วิธีการวิจัย

งานวิจัยนี้อยู่ภายใต้ หัวข้อเรื่อง ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์กล้วยด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมข้าวคราวแบบขวดแฝดในระดับอุตสาหกรรม แบ่งงานวิจัยออกเป็น 5 หัวข้อย่อย ได้แก่

งานวิจัยที่ 1 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อหน่อกล้วยในสภาพปลอดเชื้อ

งานวิจัยที่ 2 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้นกล้วยในระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาดเล็ก เปรียบเทียบกับอาหารแข็ง

งานวิจัยที่ 3 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการยืดยาว และ การออกรากของต้นกล้วยในระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาดเล็ก

งานวิจัยที่ 4 การเพิ่มศักยภาพการยืดยาวและออกรากของต้นกล้วยด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ระดับอุตสาหกรรม

งานวิจัยที่ 5 การสร้างโมเดลระบบการผลิตต้นกล้วยด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์
งานวิจัยแต่ละหัวข้อย่อยมีรายละเอียดดังนี้

วิธีการดำเนินงาน

ต้นพืชที่ใช้ในงานทดลอง

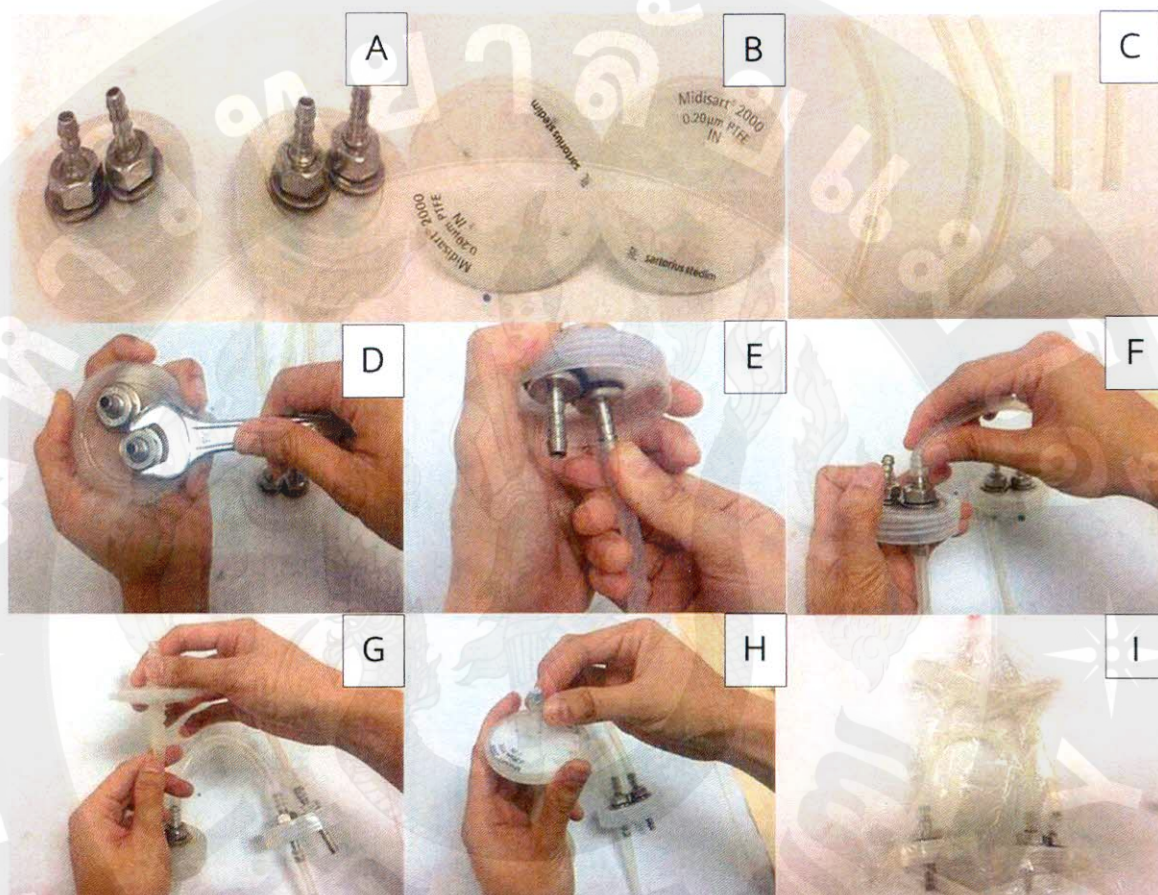
ต้นพืชที่ใช้ในงานทดลอง คือ กล้วย แบ่งออกเป็น ในระยะชักนำให้เกิดต้นใช้หน่อกล้วยที่ได้จากฟาร์มสัตว์ปีก คณะสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้สำนระยะเพิ่มปริมาณต้นใช้ต้นกล้วยหอมทองในสภาพปลอดเชื้อ (ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้)

การเตรียมชุดอุปกรณ์ TIB ขนาดภาชนะ 700 มิลลิตร

ขั้นตอนการเตรียมอุปกรณ์มีขั้นตอนการเตรียมอุปกรณ์ในการประกอบดังนี้

การประกอบหัว TIB ต้องใช้ทักษะในการประกอบส่วนต่างๆ เนื่องจากจะมีผลต่อการไหลไปกลับของอาหารที่เพาะเลี้ยงต้นไม่ได้ มีองค์ประกอบดังนี้ ฝาขวด ฟิวเตอร์ ซิลิโคน (เส้นและยาว) (ภาพที่ 1A-1C) การหมุนฝาให้แน่นติดกับฝาให้แน่นโดยมียางรองด้านในป้องกันการรั่วซึมของอาหาร (ภาพที่ 1D) เมื่อต่อครบทั้ง 2 ฝา จึงต่อสายซิลิโคนเล็กเส้นยาวไว้ด้านล่าง (ภาพที่ 1E) และสายซิลิโคนใหญ่เส้นยาวเชื่อมระหว่างสองขวดไว้ด้านบน (ภาพที่ 1F) สายซิลิโคนสายสั้นต่อกับฟิวเตอร์ (ภาพที่ 1H)

ขนาดแผ่นกรองสามารถกรองเชื้อที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2 ไมครอน จากนั้นห่อฟอยล์ที่ปลายฟิวเตอร์ เพื่อป้องกันไอน้ำเข้า มัดขมวดปลายสายบรรจุถุงพลาสติกมัดแบบไล่อากาศออก (ภาพที่ 1I) เตรียมหนึ่ง ซ้ำเข้าก่อนใช้เป็นขั้นตอนต่อไป



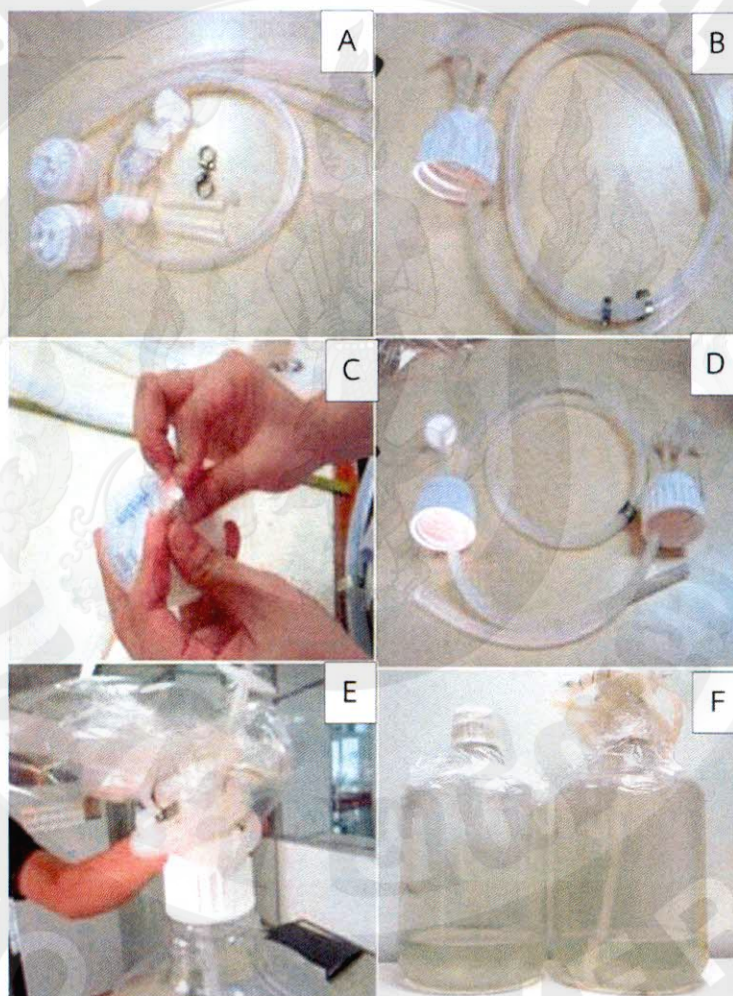
ภาพที่ 1 อุปกรณ์และวิธีการต่อหัว TIB ชุดเล็กขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร องค์ประกอบ ชุดหัว TIB ฝา TIB (A) ฟิวเตอร์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.2 ไมครอน (B) สายซิลิโคน (C) การหมุนน็อตให้แน่นกับฝา (D) การต่อสายยางยาวเล็กด้านล่างฝา (E) การต่อ สายยางใหญ่เส้นยาวด้านบนฝา (F) การต่อฟิวเตอร์กับสายยางสายสั้น (G) ห่อฟอยล์ที่บนฟิวเตอร์ (H) TIB 1 ชุดสำหรับการใช้งาน (I)

การเตรียมชุดอุปกรณ์ TIB ขนาดภาชนะ 20 ลิตร

มีขั้นตอนการเตรียมอุปกรณ์มีขั้นตอนการเตรียมอุปกรณ์ในการประกอบดังนี้

การต่อชุด TIB ขนาดภาชนะ 20 ลิตร จะต้องใช้ทักษะในการต่อชุดหัว TIB เช่นกัน โดยมี อุปกรณ์ดังนี้ ฝาภาชนะ สายยางซิลิโคน ฟิวเตอร์ วงแหวนล็อก (ภาพที่ 2A) ต่อสายซิลิโคนเส้นยาวไว้

ด้านบนระหว่าง 2 ถึง (ภาพที่ 2B) ห่อฟอยล์ที่ปลายฟิวเตอร์ (ภาพที่ 2C) จนกระทั่งได้ชุดหัว TIB ที่สมบูรณ์ (ภาพที่ 2D) จากนั้นจึงเตรียมอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงแล้วเทอาหารใส่ในภาชนะพลาสติก (Nalgene 20 ลิตร) ลงในภาชนะละ 5 ลิตร แล้วปิดฝาที่ประกอบหัวเรียบร้อยแล้วมาประกอบไว้บนภาชนะ 1 ภาชนะ และอีก 1 ภาชนะ ปิดฝาธรรมดาไว้ เพราะจะต้องไปประกอบในตู้หลังจากใส่ต้นไม้ วิธีการห่อฝาข้างต้นเพื่อนึ่งฆ่าเชื้อ ทำโดยการม้วนฝาข้างหนึ่งมาม้วนไว้บนฝาด้านข้างโดยต่อหัวไว้กับภาชนะ 1 ภาชนะพันเทปโดยรอบฝา (ภาพที่ 2E) นำภาชนะแต่ละภาชนะไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อวินาที (ภาพที่ 2F)



ภาพที่ 2 อุปกรณ์และวิธีการต่อหัว TIB ขนาดภาชนะ 20 ลิตร องค์ประกอบชุดหัว TIB: ฝาภาชนะ ฟิวเตอร์ วงแหวน สายยาง (A) การต่อสายเข้ากับภาชนะ TIB (B), นำฟอยล์มาปิดหัวฟิวเตอร์ (C), ประกอบสองฝาเข้าด้วยกัน (D), ห่อหัว TIB ด้วยถุงพลาสติกและพันเทปกาวยึดรอบหัว TIB ขนาด 20 ลิตร (E), ชุด TIB ประกอบด้วยถัง 2 ถัง บรรจุอาหารถังละ 5 ลิตร (F)

งานวิจัยที่ 1 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการพอกฆ่าเชื้อ หนองกล้วยในสภาพปลอดเชื้อ

1.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ปัจจัยที่ศึกษาได้แก่

ปัจจัยที่ 1 สารฆ่าเชื้อ HgCl_2 (Mercuric (II) chloride) 0.1%

ปัจจัยที่ 2 สารฆ่าเชื้อ NaClO 0.8%

ปัจจัยที่ 3 สารฆ่าเชื้อ เพอร์ซุ (Pursue™) 3%

1.2 การเตรียมหนองกล้วยเพื่อใช้เป็นชิ้นส่วนตั้งต้น

การเตรียมชิ้นส่วนตั้งต้นเริ่มด้วยการทำความสะอาดพื้นผิวหนองกล้วยที่นำมาจาก ฟาร์มสัตว์ปีก คณะสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ หนองมีความสูงประมาณ 75-80 เซนติเมตร ทำความสะอาดชิ้นต้นโดยกำจัดดินออก แล้วนำมาล้างผ่านน้ำไหลนาน 10 นาที ตัดรากและฐานออก แต่ไม่ควรตัดใกล้บริเวณปลายยอด ลอกกาบใบออกให้เหลือต้น กว้างประมาณ 15 เซนติเมตร จากนั้นนำมาล้างน้ำอีกครั้งเพื่อถูยางกล้วยออกด้วยผงซักฟอก 10 นาที และตัดแต่งให้เหลือขนาด 4 เซนติเมตร แล้วนำไปใส่ภาชนะที่มีฝาปิด จากนั้นนำเข้าสู่กระบวนการพอกฆ่าเชื้อในสภาพปลอดเชื้อและการตัดแต่งหน่อในตู้ปลอดเชื้อ แล้วใช้สารเคมีในการพอกฆ่าเชื้อ 3 ชนิด โดยเริ่มจากการพอกด้วยแอลกอฮอล์ 70 % นาน 10 วินาที จากนั้นจึงนำมาพอกด้วยสารฆ่าเชื้อแต่ละชนิดด้วยการเขย่านาน 10 นาที และจึงนำมาล้างด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง

1.3 การเพาะเลี้ยงยอดกล้วย

ยอดกล้วยที่ผ่านการฆ่าเชื้อข้างต้นนำมาลอกกาบออก 3-4 กาบ แล้วจึงผ่าหน่อออกเป็น 4 ส่วนเท่า ๆ กัน โดยผ่าตามแนวยาวผ่านบริเวณปลายยอดกล้วย ใส่ชิ้นส่วนตั้งต้นยอดที่ผ่าออกเป็น 4 ส่วนแล้ว ปักลงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ 0.250 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 2 สัปดาห์ เมื่อชิ้นส่วนที่รอดชีวิตไม่เกิดการปนเปื้อน จึงย้ายไปเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ขนาดภาชนะ 700 มิลลิตร โดยอาหารเป็นอาหารสูตรเดิม แต่เป็นอาหารเหลว ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 5 นาที เพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

1.4 การเก็บข้อมูล

- เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต
- เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน
- จำนวนต้นต่อชิ้นส่วน

งานวิจัยที่ 2 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้นกล้วยในระบบ
ไบโอรีแอคเตอร์ขนาดเล็ก เปรียบเทียบกับอาหารแข็ง 3 รอบ

2.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Factorials in CRD ปัจจัยที่ศึกษาได้แก่

ปัจจัยที่ 1 สภาพการเพาะเลี้ยง แบบอาหารแข็งและ TIB ขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร

ปัจจัยที่ 2 การผ่าชิ้นส่วนตั้งต้น 0, 2 และ 4 ส่วน

ปัจจัยที่ 3 ความเข้มข้นของ TDZ 0, 0.125 และ 0.250 มิลลิกรัมต่อลิตร

รวมทั้งสิ้น $3 \times 3 \times 2 = 18$ ทริตเมนต์คอมบินั่น ทำ 4 ซ้ำ ทำการทดลองทั้งหมด 3 รอบ แต่
ละรอบเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์

2.2 การเตรียมชิ้นส่วนตั้งต้นกล้วย

นำต้นที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 1 เดือน มาใช้ในการทดลอง โดยขนาด
ต้นสูง 5 เซนติเมตร ความกว้างของต้น 1 เซนติเมตร ซึ่งเป็นขนาดที่สามารถนำมาผ่าได้ในแนวยาวที่
สมมาตรกันได้ และคัดเลือกขนาดต้นสม่ำเสมอในการเจริญเติบโตในทุกทริตเมนต์

วิธีการผ่าชิ้นส่วนทำได้โดยทำต้นดังกล่าวมาแล้วมาตัดใบออกเหลือความสูงต้นประมาณ
1.5 เซนติเมตร และนำมาใช้เป็นยอดที่ไม่ผ่าส่วนการผ่ายอดจะนำยอดตัดใบออกเช่นกันแล้วผ่า
ตามยาวผ่านตายอดด้านในแบ่งเป็น 2 และ 4 ส่วนเท่า ๆ กัน ในแต่ละภาชนะจะใช้ชิ้นส่วนตั้งต้นจาก
ยอดจำนวน 4 ยอดเท่ากัน ดังนั้นจะได้ชิ้นส่วนตั้งต้นจำนวน 4, 8 และ 16 ชิ้นส่วนต่อภาชนะสำหรับ
การไม่ผ่ายอด การผ่ายอด 2 และ 4 ส่วน ตามลำดับ เพาะเลี้ยงในอาหาร MS ดัดแปลงที่เติมสาร
ควบคุมการเจริญเติบโต TDZ แต่ละความเข้มข้น ดังแผนการทดลองข้างต้น เพาะเลี้ยงโดยระบบ TIB
(ภาพที่ 3) และอาหารแข็ง (ภาพที่ 4)

2.3 เก็บข้อมูล

- เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่อชิ้นส่วน
- จำนวนต้นต่อชิ้นส่วน

- จำนวนต้นต่อภาชนะ
- จำนวนใบ
- ความกว้างใบ
- ความยาวใบ
- ความสูงต้น
- น้ำหนักสดต่อต้น

TDZ (mg/L)	ไม่ผ่า	ผ่า 2 ส่วน	ผ่า 4 ส่วน
0			
0.125			
0.25			

ภาพที่ 3 ชิ้นส่วนตั้งต้นของกล้วยที่เริ่มเพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร ที่มีลักษณะการผ่าชิ้นส่วน 3 แบบ คือ ไม่ผ่า ผ่า 2 ส่วน และผ่า 4 ส่วน ในอาหารที่มี TDZ 0, 0.125 และ 0.250 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 4 ชิ้นส่วนตั้งต้นของกล้วยที่เริ่มเพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็งขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตรที่มีลักษณะการผ่าชิ้นส่วน 3 แบบ คือ ไม่ผ่า ผ่า 2 ส่วน และผ่า 4 ส่วน ในอาหารที่มี TDZ 0, 0.125 และ 0.250 มิลลิกรัมต่อลิตร

งานวิจัยที่ 3 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการยืดยาวและการออกรากของต้นกล้วยในระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร

3.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Factorials in CRD ปัจจัยที่ศึกษาได้แก่

ปัจจัยที่ 1 ความเข้มข้นของ NAA, IBA 0, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ปัจจัยที่ 2 เวลาในการให้อาหารของระบบ TIB 2 และ 6 ครั้งต่อวัน

รวมทั้งสิ้น $3 \times 2 = 6$ ทริตเมนต์คอมบินชัน ทำทั้งหมด 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ชิ้นส่วนต่อภาชนะ เพาะเลี้ยงนาน 4 สัปดาห์

3.2 การเตรียมชิ้นส่วน

การเตรียมชิ้นส่วน นำต้นที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นระยะเวลา 1 เดือน มาทำการทดลอง ซึ่งต้นต้องมีขนาดที่ใกล้เคียงกันสูง 5 เซนติเมตร ความกว้างของต้น 1 เซนติเมตร มาตัดราก และใบออก ใส่ขวดละ 10 ชิ้นส่วนเพาะเลี้ยงในอาหาร MS ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต NAA หรือ IBA ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ดังแผนการทดลอง ข้างต้นโดยเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร

งานวิจัยที่ 4 การเพิ่มศักยภาพการยืดยาวและการออกรากของต้นกล้วย ด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาดภาชนะ 20 ลิตร

หลังการศึกษากการยืดยาวและการออกรากของกล้วยหอมทองที่ได้ทำการเพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวขนาด 700 มิลลิลิตร แล้วนำผลการศึกษาในการทดลองที่ 3 มาทดลองเพิ่มศักยภาพในระดับอุตสาหกรรมกับระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวขนาดภาชนะ 20 ลิตร ในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนทั้งหมด 4 ชุด เพื่อศึกษาระยะยืดยาวและออกราก หลังจากการเพาะเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์ สังเกตการเจริญเติบโตของต้นกล้วยหอมทอง จำนวนต้นต่อภาชนะ 1,100 ต้นต่อภาชนะ หลังจากออกปลูกรอดตาย 1,000 ต้น

4.1 การเก็บข้อมูล

- จำนวนรากต่อต้น
- ความยาวราก
- ความสูงต้น

ในการศึกษางานวิจัยที่ 1-4 นี้มีวิธีการและสภาวะแวดล้อมที่เหมือนกัน ได้แก่

สภาวะที่เพาะเลี้ยง

ความเข้มแสง เพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกล้วยไว้ภายใต้แสงความเข้ม 40 ไมโครโมลต่อตารางเมตร ต่อวินาที นาน 14 ชั่วโมงต่อวัน ที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส

การเตรียมอาหาร

สูตรอาหารมาตรฐานที่ใช้ คือ MS (Murashige and Skoog, 1962) ดัดแปลง pH เริ่มต้น 5.8 ปริมาตรอาหารเหลว 300 มิลลิลิตรต่อขวด และอาหารแข็ง 100 มิลลิลิตรต่อขวด ซึ่งใช้ภาชนะขวดแก้วขนาด 700 มิลลิลิตร

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์สถิติ ANOVA ด้วยโปรแกรม Statgraphics Plus 5.1 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดย one-way analysis ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในระดับความเชื่อมั่น 95%

งานวิจัยที่ 5 การสร้างโมเดลระบบผลิตต้นกล้วยด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์

นำผลการทดลองของข้อที่ 1-4 มาจัดทำโมเดลระบบผลิตต้นกล้วยด้วยการออกแบบโมเดล เริ่มตั้งแต่การชักนำให้เกิดต้น จนกระทั่งต้นออกปลุก



บทที่ 4

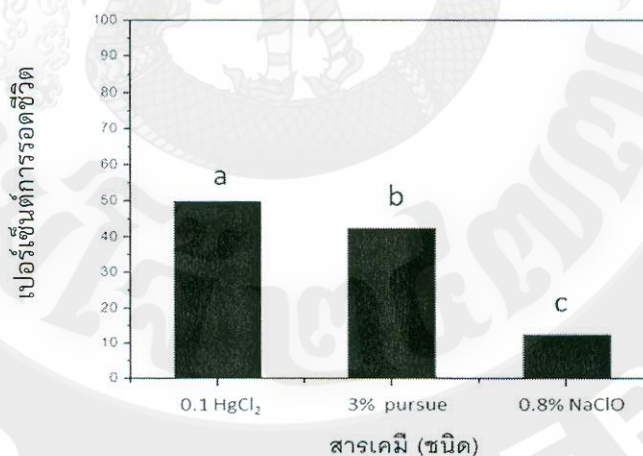
ผลการวิจัยและวิจารณ์

ผลการวิจัยที่ 1: ผลการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อหน่อกล้วยในสภาพปลอดเชื้อ

ขั้นตอนแรกที่สำคัญของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชคือ การนำชิ้นส่วนมาฟอกฆ่าเชื้อและงานวิจัยนี้ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีที่ใช้ในการฟอกฆ่าเชื้อหน่อกล้วยซึ่งเป็นชิ้นส่วนตั้งต้น 3 ชนิด เพื่อกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ ผลการศึกษามีดังต่อไปนี้

เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต

ในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนหน่อกล้วยหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ การใช้สารฟอกฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด ได้แก่ HgCl_2 0.1% พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด คือ 50% รองลงมาคือ PursueTM 3% รอดชีวิต 43% และ NaClO 0.8% รอดชีวิตเพียง 12.5% เท่านั้น (ภาพที่ 5) ชิ้นส่วนที่รอดชีวิตมีลักษณะสีเขียวเกิดบริเวณชิ้นส่วน (ดังภาพที่ 5A) และจะเจริญเป็นยอดได้



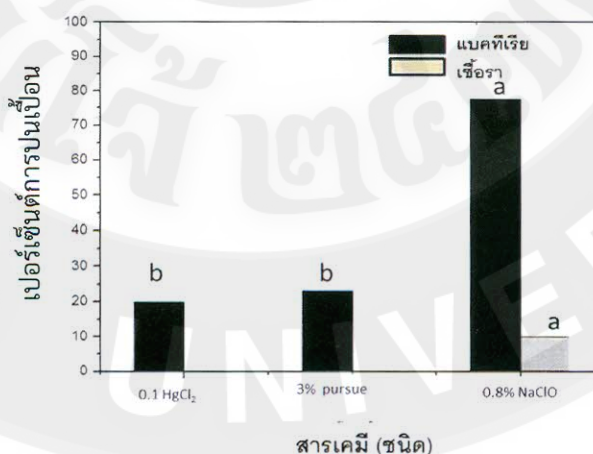
ภาพที่ 5 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนกล้วยหลังการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารเคมี 3 ชนิดเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์



ภาพที่ 6 ลักษณะการปนเปื้อนของชิ้นส่วนตั้งต้นของกล้วยหลังจากการฟอกฆ่าเชื้อ ชิ้นส่วนที่ไม่ปนเปื้อนที่รอดชีวิต (A), ชิ้นส่วนที่ปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย (B) และ ชิ้นส่วนที่ปนเปื้อนเชื้อรา (C)

เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา

การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบ คือ แบคทีเรียและเชื้อรา เชื้อแบคทีเรียมีลักษณะสีขาว ขุ่นเยิ้มทั่วบริเวณชิ้นส่วนและบริเวณหน้าอาหาร มีกลิ่นเหม็นบูด (ภาพที่ 6B) ส่วนการปนเปื้อนที่เกิดจากเชื้อราส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นเส้นใยขาวฟูทั่วบริเวณชิ้นส่วนและผิวหน้าอาหาร (ภาพที่ 6C) ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนอย่างมาก จากการทดลองพบว่า สารฟอกฆ่าเชื้อ HgCl_2 0.1% และ Pursue 3% ไม่พบการปนเปื้อนเชื้อรา แต่มีการปนเปื้อนเชื้อแบคทีเรีย 20 และ 23% ตามลำดับ ส่วน NaClO 0.8% มีการปนเปื้อนมากที่สุด พบทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา 77.50 และ 10% ตามลำดับ (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของชิ้นส่วนกล้วยที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อด้วย HgCl_2 0.1% PursueTM 3% และ NaClO 0.8% หลังเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์

การชักนำให้เกิดต้นในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝด

หลังจากการทดลองการฟอกฆ่าเชื้อหน่อกล้วยแล้วนำชิ้นส่วนตั้งต้นที่รอดชีวิตที่มีลักษณะสีเขียวมาเพาะเลี้ยงในระบบ TIB เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ทุกชิ้นส่วนสามารถเจริญเป็นยอดได้เฉลี่ย 2 ยอดต่อชิ้นส่วน ความสูงยอด 3-4 เซนติเมตร ลักษณะสัณฐานต้นไม่มีราก (ภาพที่ 8) แต่เป็นที่สังเกตว่า ต้นที่ฟอกด้วย NaClO เมื่อเพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์แล้ว อาหารเปลี่ยนเป็นสีขาวขุ่นแสดงการปนเปื้อนอีก ต้องนำชิ้นส่วนดังกล่าวมาฟอกฆ่าเชื้อซ้ำอีกรอบจึงได้ต้นที่ปลอดเชื้อ



ภาพที่ 8 ต้นกล้วยปลอดเชื้อที่ได้จากการฟอกฆ่าเชื้อด้วย HgCl_2 0.1% ที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน ครั้งละ 5 นาที (A) และลักษณะต้นกล้วยที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (B)

ผลการวิจัยที่ 2 ผลการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้นกล้วย
ในระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร
เปรียบเทียบกับอาหารแข็ง

ในขั้นตอนต่อจากการได้วิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมในข้างต้น ได้แก่ ระยะเพิ่มปริมาณให้
ได้ต้นที่มีคุณภาพเพียงพอ และสามารถกำหนดเวลาการผลิตได้ จากการทดสอบในระบบ TIB
เปรียบเทียบกับ ระบบอาหารแข็ง ร่วมกับการใช้ TDZ ต่อการเพิ่มปริมาณต้น ซึ่งทำการทดลองระยะ
เพิ่มปริมาณทั้งหมด 3 รอบ ในรายงานนี้จะนำเสนอผลงานวิจัยของทั้งสามรอบพร้อมกันดังนี้ คือ

ลักษณะต้นกล้วยหอมทองในระหว่างการเพิ่มปริมาณ

ลักษณะต้นกล้วยหอมทองหลังจากเพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวขนาด
ขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร และอาหารแข็งในระหว่างการเพิ่มปริมาณต้น ทั้งในระบบ TIB และอาหาร
แข็งทั้งสามรอบจะแตกต่างกันออกไปตามปัจจัยที่ได้รับและรอบของการตัดถ่าย (ภาพที่ 9) จากการ
สังเกตลักษณะต้นกล้วยใหม่ที่เกิดขึ้นสามารถแบ่งออกเป็น 3 ประเภท คือ ต้นโต ต้นเล็ก และต้นจิว
โดยต้นโตมีความสูงประมาณ 4-10 เซนติเมตร ใบแผ่ชัดเจนและอาจเกิดราก (ภาพที่ 10A) ต้นเล็กมี
ความประมาณสูง 2-4 เซนติเมตร มักเกิดเป็นกลุ่มใบเล็กไม่แผ่ออกและไม่เกิดราก (ภาพที่ 10B) และ
ต้นจิวสูงไม่เกิน 1 เซนติเมตร เป็นเพียงตุ่มยอดเล็กๆ เกิดขึ้นมาตรงส่วนฐานของชิ้นส่วนต้น (ภาพที่
10C) ปริมาณการเกิดต้นทั้ง 3 ลักษณะในแต่ละรอบจะแตกต่างกันออกไปตามปัจจัยที่ได้รับในแต่ละรอบ
การตัดถ่าย (ภาพที่ 9)

รอบที่ 1



รอบที่ 2



รอบที่ 3



TIB

อาหารแห้ง

ภาพที่ 9 ลักษณะการเจริญเติบโตของต้นกล้วยหอมทองที่มีชิ้นส่วนตั้งต้นแบบไม่ผ่า ผ่า 2 ส่วน และ ผ่า 4 ส่วนในอาหารเหลว MS ที่มีการเติม TDZ 0, 0.125 และ 0.250 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร และระบบอาหารแข็งรอบที่ 1 2 3 เป็นเวลารอบละ 6 สัปดาห์



ภาพที่ 10 ลักษณะต้นโต (A) ต้นเล็ก (B) และต้นจิว (C) ที่เกิดขึ้นบนชิ้นส่วนยอดกล้วยหอมทองใน
ระยะเพิ่มปริมาณในสภาพปลอดเชื้อ เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว
แบบขวดแฝดเพาะเลี้ยงรอบที่ 3 เป็นเวลา 6 สัปดาห์ (bar = 1 เซนติเมตร)

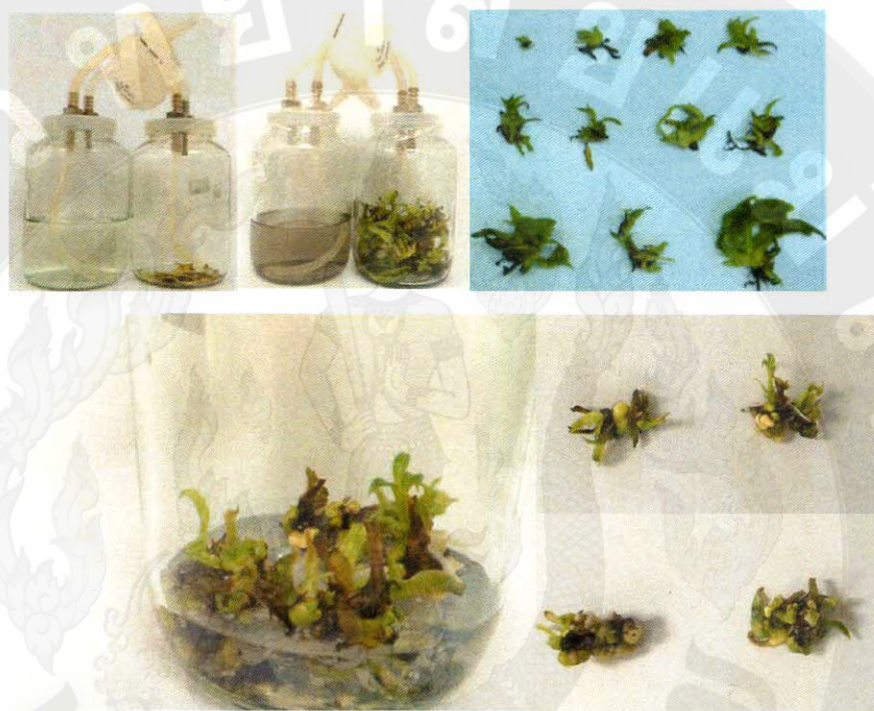
รายละเอียดของลักษณะต้นกล้วยที่เกิดขึ้นในแต่ละรอบ

ลักษณะต้นกล้วยหอมทองในรอบที่ 1 ต้นกล้วยที่ไม่มีการผ่าจะพัฒนาเป็นต้นโตเต็มที่ ใบแผ่
ออก มีการแตกต้นใหม่บ้าง ในขณะที่ชิ้นส่วนตั้งต้นที่มีการผ่าและได้รับ TDZ ต้นมีการเปลี่ยนแปลง
รูปร่างบ้าง ต้นในระยะเริ่มต้นยังไม่เกิดการสะสมของ TDZ มากนักจึงมีลักษณะต้นคล้ายต้นโตทั่วไป
คือ ใบเริ่มลดรูปลง และอัตราการแตกต้นใหม่ยังเกิดขึ้นได้ช้า (ภาพที่ 11)



ภาพที่ 11 ลักษณะต้นกล้วยหอมทองที่มีชิ้นส่วนตั้งต้นแบบผ่า 2 ส่วน และเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี
TDZ 0.250 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝดเพาะ
เลี้ยงรอบที่ 1 เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ลักษณะต้นกล้วยหอมทองในการทดลองรอบที่ 2 เปลี่ยนแปลงไปอย่างเห็นได้ชัด โดยเฉพาะต้นที่มาจากการผ่าชิ้นส่วนตั้งต้นร่วมกับการได้รับ TDZ ใบจะลดรูปลงไม่คลี่ใบมีขนาดเล็ก มีการแตกต้นเพิ่มขึ้นมากต้นมีขนาดประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร อีกทั้งพบลักษณะของต้นกล้วยที่เกิดเป็นต้นเล็ก และกลุ่มต้นรวมเกาะกันเป็นก้อน ต้นที่ได้มีความสูงไม่เกิน 1 เซนติเมตร ลักษณะไม่เหมือนต้นกล้วยทั่วไป (ภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 ลักษณะต้นกล้วยหอมทองที่มีชิ้นส่วนตั้งต้นแบบ ผ่า 4 ส่วนและเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี TDZ 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวขนาด 700 มิลลิลิตร และระบบอาหารแข็งที่เพาะเลี้ยงรอบที่ 2 เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ลักษณะต้นกล้วยในรอบที่ 3 จากการทดลองในรอบที่ 2 ต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้น TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดต้นจิวและใบลดรูปมาก (ภาพที่ 13) ในรอบที่ 3 จึงได้ตัดทรีตเมนต์ TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตรออก ซึ่งต้นหลังจากเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์พบว่า ต้นที่มีใบแผ่เต็มทีกลับน้อยลงมาก พบแต่ต้นเล็กและต้นจิวยอดมากกว่าในรอบที่สอง



ภาพที่ 13 ลักษณะต้นกล้วยหอมทองที่มีชิ้นส่วนตั้งต้นแบบผ่า 2 ส่วน และเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี TDZ 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแบน (A) และระบบอาหารแข็ง (B) ที่เพาะเลี้ยงรอบที่ 3 เป็นเวลา 6 สัปดาห์

เปอร์เซ็นต์การเกิดต้นประเภทต่าง ๆ ในการเพิ่มปริมาณต้น 3 รอบ

เปอร์เซ็นต์การเกิดต้นประเภทต่าง ๆ มีความแตกต่างกันในแต่ละรอบการทดลอง โดยการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB (ตารางที่ 1) พบว่า การไม่ผ่ายอดร่วมกับ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ มีเปอร์เซ็นต์ต้นโตทั้งหมด 100% ในทุกรอบการเพิ่มปริมาณ มีเปอร์เซ็นต์ต้นเล็กเพิ่มขึ้นในการทดลองรอบที่ 2 และ 3 ตามลำดับ ทั้งนี้ไม่พบต้นจิวเลยในทุกรอบการทดลอง ในขณะที่การผ่ายอดทั้ง 2 และ 4 ส่วนมีเปอร์เซ็นต์ต้นโตลดลงและเปอร์เซ็นต์ต้นเล็กและต้นจิวเพิ่มมากขึ้นในการทดลองรอบที่ 2 และ 3 ตามลำดับ

ส่วนในการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง จากตารางที่ 2 พบว่า เปอร์เซ็นต์ต้นประเภทต่าง ๆ มีแนวโน้มเช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB แต่มีข้อสังเกตว่าในการทดลองรอบที่ 2 ของการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งเริ่มพบต้นจิวเพิ่มมากขึ้นเป็นอย่างมาก เมื่อเปรียบเทียบกับ การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB โดยเฉพาะการผ่ายอดร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.250 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีต้นโตไม่เพียงพอสำหรับการทดลองรอบต่อไป นอกจากนี้การผ่ายอดร่วมกับการใช้ TDZ ความเข้มข้น 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร ยังคงมีเปอร์เซ็นต์ต้นจิวเพิ่มมากยิ่งขึ้นในการทดลองรอบที่ 3 อีกด้วย

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์ต้นชนิดต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นบนชิ้นส่วนตั้งต้นกล้วยหอมทองที่มีการฝ่ายอดแบบต่าง ๆ เพาะเลี้ยงด้วยอาหารเหลวในระบบ TIB สูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ความเข้มข้นแตกต่างกัน ทำการทดลอง 3 รอบ นานรอบละ 6 สัปดาห์

TDZ (mg/l)	ชนิดชิ้นส่วน	TIB								
		รอบที่ 1			รอบที่ 2			รอบที่ 3		
		ต้นโต	ต้นเล็ก	ต้นจิว	ต้นโต	ต้นเล็ก	ต้นจิว	ต้นโต	ต้นเล็ก	ต้นจิว
0	ไม่ฝ่า	100	0	0	100	0	0	100	0	0
	ฝ่า 2 ส่วน	100	0	0	67.28	32.72	0	51.61	49.58	0
	ฝ่า 4 ส่วน	100	0	0	72.33	27.43	0	45.52	55.78	0
0.125	ไม่ฝ่า	100	0	0	100	0	0	0	0	0
	ฝ่า 2 ส่วน	100	0	0	58.63	38.59	4.12	40.28	40.28	9.47
	ฝ่า 4 ส่วน	100	0	0	46.59	47.68	7.25	44.58	44.58	15.14
0.25	ไม่ฝ่า	100	0	0	100	0	0	NA	NA	NA
	ฝ่า 2 ส่วน	100	0	0	41.50	31.24	28.31	NA	NA	NA
	ฝ่า 4 ส่วน	100	0	0	13.24	34.55	53.68	NA	NA	NA

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์ต้นชนิดต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นบนชิ้นส่วนตั้งต้นกล้วยหอมทองที่มีการฝ่ายอดแบบต่าง ๆ เพาะเลี้ยงด้วยอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ความเข้มข้นแตกต่างกัน ทำการทดลอง 3 รอบ นานรอบละ 6 สัปดาห์

TDZ (mg/l)	ชนิดชิ้นส่วน	อาหารแข็ง								
		รอบที่ 1			รอบที่ 2			รอบที่ 3		
		ต้นโต	ต้นเล็ก	ต้นจิว	ต้นโต	ต้นเล็ก	ต้นจิว	ต้นโต	ต้นเล็ก	ต้นจิว
0	ไม่ฝ่า	100	0	0	100	0	0	100	0	0
	ฝ่า 2 ส่วน	100	0	0	100	0	0	62.46	38.35	0
	ฝ่า 4 ส่วน	100	0	0	100	0	0	43.65	57.68	0
0.125	ไม่ฝ่า	100	0	0	100	0	0	100	0	0
	ฝ่า 2 ส่วน	100	0	0	34.26	28.15	38.33	22.45	23.56	45.67
	ฝ่า 4 ส่วน	100	0	0	27.43	27.43	46.65	17.25	20.64	63.12
0.25	ไม่ฝ่า	100	0	0	100	0	0	NA	NA	NA
	ฝ่า 2 ส่วน	100	0	0	27.15	19.36	54.14	NA	NA	NA
	ฝ่า 4 ส่วน	100	0	0	8.58	24.33	68.21	NA	NA	NA

เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนตั้งต้น

ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนยอดกล้วยหอมทองเพื่อเพิ่มปริมาณต้นพบว่า ปัจจัยที่ 3 ปัจจัยมีผลต่อเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต ดังรายละเอียดของแต่ละรอบดังนี้ (ภาพที่ 14)

เปอร์เซ็นต์การรอดตายของชิ้นส่วนตั้งต้นกล้วยรอบที่ 1

ในรอบที่ 1 เปอร์เซ็นต์การรอดตายของชิ้นส่วนตั้งต้นกล้วยหอมทองในระบบระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร พบว่า ชิ้นส่วนตั้งต้นกล้วยที่ไม่ผ่ารอดตาย 100% ขณะที่ชิ้นส่วนที่ผ่า 2 ส่วน และผ่า 4 ส่วน มีเปอร์เซ็นต์การรอดตายลดลงระหว่าง 60-100% ส่วนเปอร์เซ็นต์การรอดตายของชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน โดยที่ชิ้นส่วนที่ไม่ได้ผ่ายอดนั้น มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงสุด 100% และการรอดตายของชิ้นส่วนที่ผ่า 2 ส่วน และผ่า 4 ส่วน มีเปอร์เซ็นต์การรอดตายลดลง (25-79%) ซึ่งชิ้นส่วนที่ผ่า 4 ส่วนมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายน้อยที่สุดเพียง 25% ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตน้อยกว่าการเพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราว

เปอร์เซ็นต์การรอดตายของชิ้นส่วนตั้งต้นกล้วยรอบที่ 2

ในรอบที่ 2 ต้นกล้วยหอมทองที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ขนาด 700 มิลลิลิตร พบว่า ชิ้นส่วนที่ไม่ผ่ารอดตาย 100% ส่วนชิ้นส่วนที่ผ่า 2 ส่วนหรือผ่า 4 ส่วน มีเปอร์เซ็นต์การรอดตายลดลงมาถึง 50% (ทั้งนี้ต้นที่เอามาผ่ามีขนาดเล็ก)

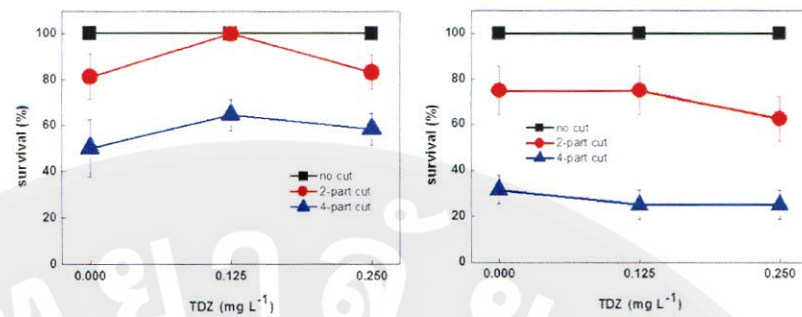
ส่วนต้นกล้วยหอมทองที่เพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็ง ชิ้นส่วนที่ไม่ผ่ารอดตาย 100% และชิ้นส่วนที่มีการผ่า 2 หรือ 4 ส่วน มีเปอร์เซ็นต์การรอดตายสูง คือ 80%-90% สูงกว่าการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ส่วนชิ้นส่วนที่ผ่า 4 ส่วนและเพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่มี TDZ เหลือเปอร์เซ็นต์การรอดตายเพียง 30% ในขณะที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม TDZ 0.125 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร รอดตาย 60-70%

เปอร์เซ็นต์การรอดตายของชิ้นส่วนตั้งต้นกล้วยรอบที่ 3

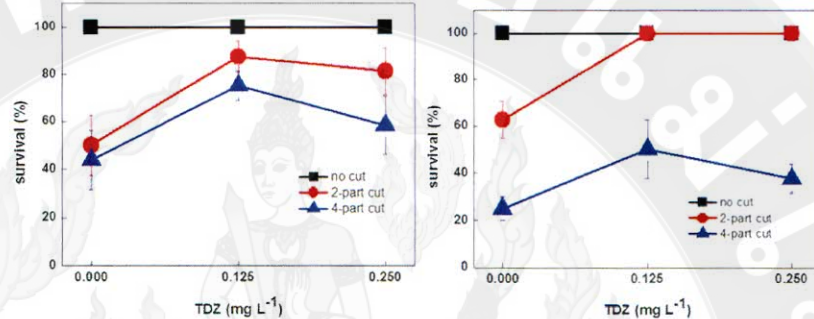
ต้นกล้วยหอมทองที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ขนาด 700 มิลลิลิตร ในรอบที่ 3 พบว่า ชิ้นส่วนที่ไม่ผ่ารอดตาย 100% (ภาพที่ 14) ส่วนชิ้นส่วนที่ผ่า 2 ส่วน มีเปอร์เซ็นต์การรอดตายสูงถึง 80% แม้ว่าไม่ถึง 100% ก็ตาม ส่วนชิ้นส่วนที่ผ่า 4 ส่วน มีเปอร์เซ็นต์การรอดตายลดลงมาเหลือ 60%

ส่วนต้นกล้วยหอมทองที่เพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็ง ชิ้นส่วนที่ไม่ผ่ารอดตาย 100% และชิ้นส่วนที่มีการผ่า 2 ส่วนหรือผ่า 4 ส่วน มีเปอร์เซ็นต์การรอดตายเพียง 20-60% น้อยกว่าการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB อย่างเห็นได้ชัด

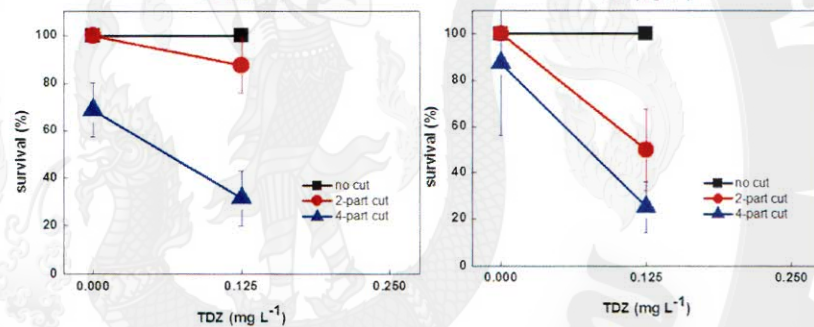
รอบที่ 1



รอบที่ 2



รอบที่ 3



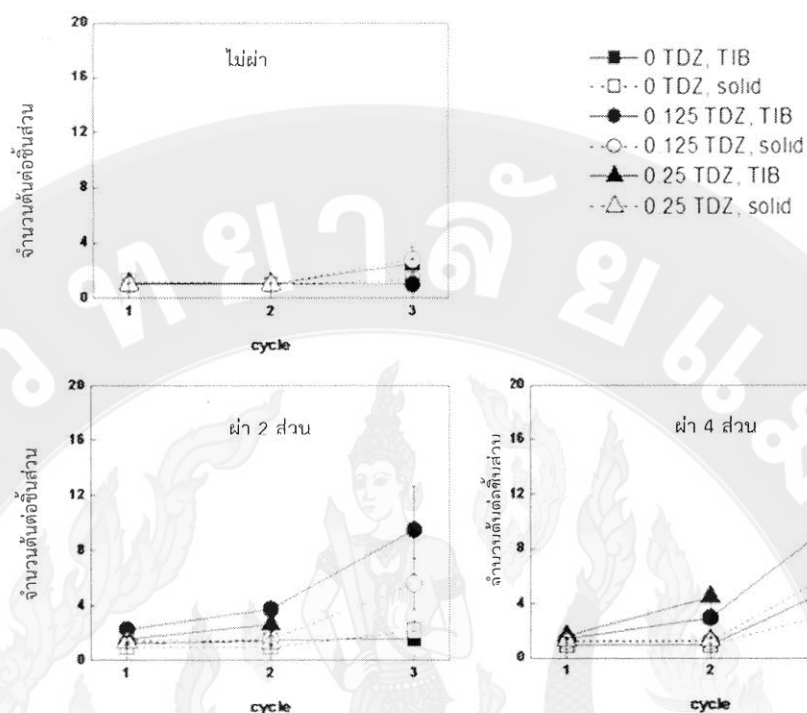
ภาพที่ 14 เปอร์เซนต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนตั้งต้นกล้วยหอมทองที่มีการผ่ายอดแบบต่าง ๆ
เพาะเลี้ยงด้วยอาหารเหลวในระบบ TIB หรืออาหารแข็งสูตร MS ตัดแปลงที่เติม TDZ
ความเข้มข้นแตกต่างกัน ทำการทดลอง 3 รอบนานรอบละ 6 สัปดาห์

จำนวนต้นต่อชิ้นส่วน

จากภาพที่ 15 พบว่าการฝಾಯอดให้จำนวนต้นต่อชิ้นส่วนเพิ่มขึ้นสูงกว่าการไม่ฝಾಯอด และจำนวนต้นต่อชิ้นส่วนมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นตามสถานะของอาหาร ความเข้มข้นของ TDZ และจำนวนรอบของการทดลอง จำนวนต้นต่อชิ้นส่วนเพิ่มมากขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงใน TIB ส่วนในอาหารแข็งจำนวนต้นต่อต้นน้อยกว่า ความเข้มข้นของ TDZ ที่เพิ่มขึ้น และรอบการตัดถ่ายต้นเพิ่มขึ้นช่วยเพิ่มจำนวนต้นต่อชิ้นส่วนเช่นกัน

ชิ้นส่วนที่ไม่ผ่าแม้จะเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีหรือไม่มี TDZ มีต้นเกิดใหม่เพียง 1-1.5 ต้นต่อชิ้นส่วน ทั้งในต้นจากรอบการเพาะเลี้ยงทั้ง 3 รอบ ในขณะที่ชิ้นส่วนที่มีการผ่า 2 ส่วน หรือ 4 ส่วนมีต้นเกิดใหม่เพิ่มขึ้นตามจำนวนการผ่าและความเข้มข้นของ TDZ การเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ในอาหารที่มี TDZ 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร และการผ่า 2 ส่วนเกิดต้นใหม่ในรอบที่ 2 ได้สูงสุดโดยเฉลี่ย 3.77 ต้นต่อชิ้นส่วน และการผ่า 4 ส่วนเกิดต้นใหม่โดยเฉลี่ย 3 ต้นต่อชิ้นส่วน และพบการเกิดต้นใหม่ต่อชิ้นส่วนเพิ่มขึ้นไปอีกในรอบที่ 3 โดยการผ่า 2 และ 4 ส่วนได้สูงสุดโดยเฉลี่ย 9.5 และ 11.03 ต้นต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ

ในขณะที่การเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งมีแนวโน้มเช่นเดียวกับระบบ TIB แต่จำนวนต้นต่อชิ้นส่วนในรอบแรกมีจำนวนน้อยกว่าเพียง 1-1.45 ต้นต่อชิ้นส่วนเท่านั้น ต่อมาในการทดลองรอบที่ 2 ในอาหารที่มี TDZ 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร และการผ่า 2 ส่วนเกิดต้นใหม่ สูงสุดโดยเฉลี่ย 1.56 ต้นต่อชิ้นส่วน และการผ่า 4 ส่วนเกิดต้นใหม่โดยเฉลี่ย 5.60 ต้นต่อชิ้นส่วน และรอบที่ 3 โดยการผ่า 2 และ 4 ส่วนได้สูงสุดโดยเฉลี่ย 1.25 และ 7.13 ต้นต่อชิ้นส่วน ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้น TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตรมีจำนวนต้นสูง แต่เนื่องจากต้นที่ได้มีลักษณะเป็นต้นจิวมากจึงตัดการทดลองที่ความเข้มข้น TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตรออกในการทดลองรอบที่ 3



ภาพที่ 15 จำนวนต้นต่อชิ้นส่วนตั้งต้นกล้วยหอมทองที่มีการฝಾಯอดแบบต่าง ๆ เพาะเลี้ยงด้วยอาหารเหลวในระบบ TIB หรืออาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ความเข้มข้นแตกต่างกัน ทำการทดลอง 3 รอบ นานรอบละ 6 สัปดาห์

จำนวนต้นทั้งหมดต่อภาชนะ

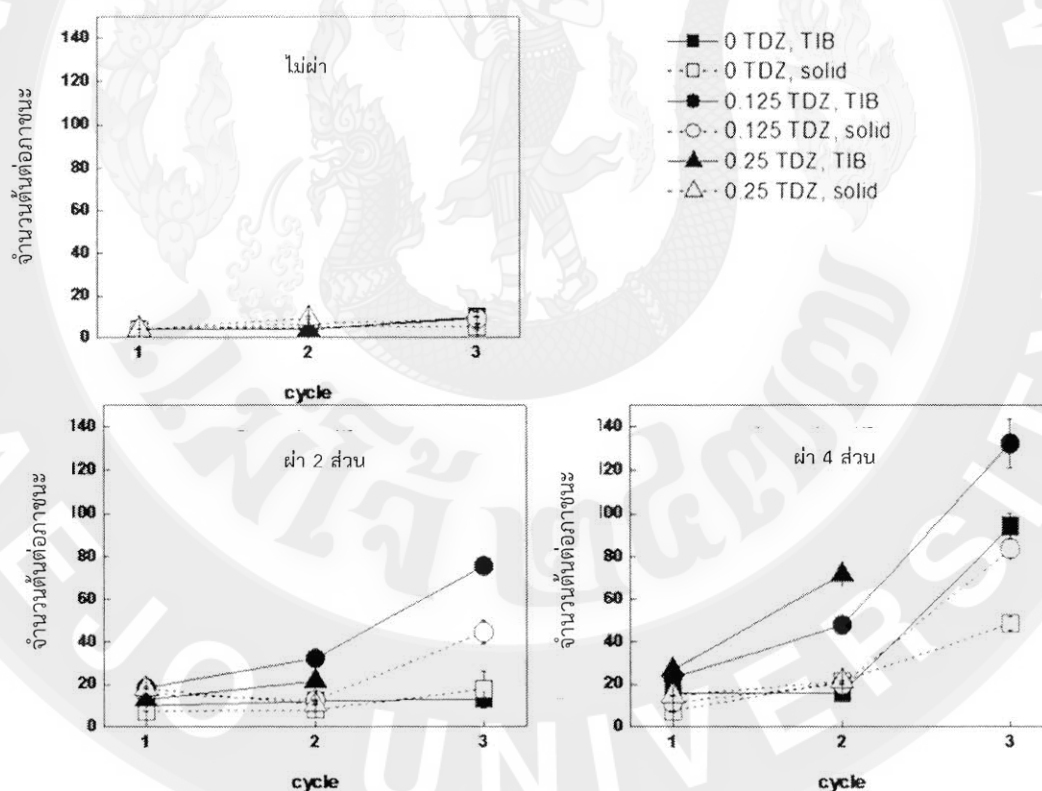
จากภาพที่ 16 พบว่า จำนวนต้นทั้งหมดต่อภาชนะขึ้นอยู่กับจำนวนรอบ สภาพอาหารและความเข้มข้นของ TDZ อย่างเห็นได้ชัด จำนวนต้นต่อภาชนะเพิ่มมากขึ้นตามจำนวนรอบการทดลอง ในรอบที่ 1 จำนวนต้นต่อภาชนะน้อยที่สุด และเพิ่มขึ้นตามรอบการตัดถ่าย ส่วนการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB มีผลทำให้ได้จำนวนต้นต่อภาชนะดีกว่าระบบอาหารแข็ง และความเข้มข้นของ TDZ ที่เพิ่มขึ้นทำให้จำนวนต้นต่อภาชนะเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด

ในการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB และระบบอาหารแข็งพบว่า การไม่ฝಾಯอดร่วมกับ TDZ ความเข้มข้นต่าง ๆ มีจำนวนต้นต่อภาชนะน้อยมากในทุกรอบการทดลอง มีเพียง 4-6.2 ต้นต่อภาชนะเท่านั้น ส่วนการฝಾಯอดส่งเสริมจำนวนต้นต่อภาชนะเพิ่มมากขึ้น ส่วนในการผ่าชิ้นส่วนตั้งต้น 2 ส่วน ในรอบที่ 1 มีจำนวนต้นต่อภาชนะเฉลี่ย 18 ต้นต่อภาชนะในทุกความเข้มข้นของ TDZ แต่เมื่อตัดถ่าย ในรอบที่ 2 และ 3 ชิ้นส่วนที่ผ่า 2 ส่วนที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีความเข้มข้น TDZ 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตรมีจำนวนต้น 34 และ 75 ต้นต่อภาชนะ ส่วนการฝायอด 4 ส่วนร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนต้นต่อภาชนะเพิ่มมากขึ้นตามจำนวนรอบการทดลองเช่นกันและเพิ่ม

มากกว่าการตัด 2 ส่วน โดยในการทดลองรอบที่ 1 มีจำนวน 23 ต้นต่อภาชนะ และเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนในการทดลองรอบที่ 2 และ 3 เป็น 48 และ 132 ต้นต่อภาชนะ ตามลำดับ ซึ่งเพิ่มขึ้นถึง 2.08 และ 5.74 เท่า ตามลำดับ

ในขณะที่เดียวกันการเพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็ง ขึ้นส่วนที่ไม่ผ่า เกิดการแตกต้นใหม่เพิ่มขึ้นเป็นไปในทิศทางเดียวกับการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB แต่จำนวนต้นต่อภาชนะในระบบอาหารแข็งน้อยกว่า ระบบ TIB อย่างเห็นได้ชัด

ในต้นที่ไม่มีการผ่า จำนวนต้นต่อภาชนะยังใกล้เคียงกันทั้งความเข้มข้นของ TDZ และรอบที่เพาะเลี้ยง ส่วนขึ้นส่วนที่ผ่า 2 ส่วนมีการเพิ่มปริมาณต้นต่อภาชนะมากขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงในรอบที่มากขึ้น ขึ้นส่วนผ่า 2 ส่วนร่วมกับ TDZ 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตรช่วยชักนำให้เกิดจำนวนต้นต่อภาชนะมากขึ้นในรอบที่ 2 และ 3 เป็น 37 และ 48 ต้นต่อภาชนะและขึ้นส่วนผ่า 2 ส่วนร่วมกับ TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตรเกิดจำนวนต้นใหม่ต่อสูงสุด ในรอบที่ 2 และ 3 เป็น 22 และ 30 ต้นต่อภาชนะ



ภาพที่ 16 จำนวนต้นต่อภาชนะของกล้วยหอมทองที่มาจากการผ่ายอดแบบต่าง ๆ เพาะเลี้ยงด้วยอาหารเหลวในระบบ TIB หรืออาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ ความเข้มข้นแตกต่างกันทำการทดลอง 3 รอบ นานรอบละ 6 สัปดาห์

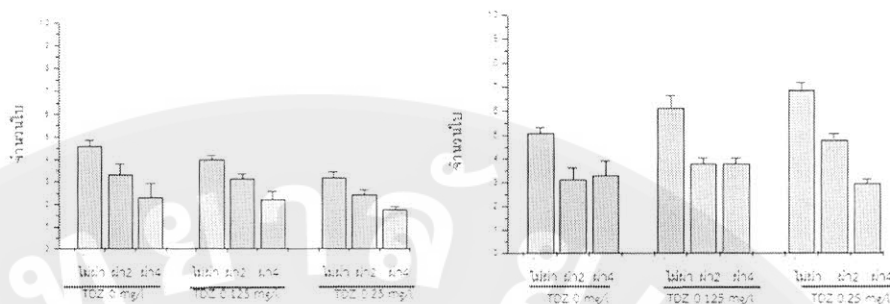
จำนวนใบต่อต้น

การเจริญเติบโตของต้นกล้วยมีส่วนประกอบที่สำคัญอีกประการหนึ่ง คือ จำนวนใบต่อต้น จากภาพที่ 17 พบว่า ขึ้นส่วนที่ไม่ฝ่ายอดมีจำนวนใบมากที่สุดทั้งการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB และ ระบบอาหารแข็ง ขึ้นส่วนที่ไม่ได้ทำการฝ่ายอดแต่ร่วมกับการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี TDZ พบว่าที่ระดับความเข้มข้นยิ่งสูงจำนวนใบจะลดลงอย่างเห็นได้ชัด ในรอบที่ 1 ต้นใน TIB มีจำนวนใบเฉลี่ยมากกว่าในช่วง 5.08-6.88 ใบ ส่วนในอาหารแข็งมีจำนวนน้อยกว่า 4-4.70 ใบ ในขณะที่ขึ้นส่วนที่ผ่า 2 และ ผ่า 4 ส่วน ที่เพาะเลี้ยงใน TDZ 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนใบเฉลี่ยน้อยลง คือ 3.52 และ 3.61 ใบต่อต้น ส่วนอาหารแข็งต้นที่ไม่ผ่าและเพาะเลี้ยงใน TDZ มีจำนวนใบ 1.4 ถึง 3.32 ใบ เมื่อมีการผ่า ขึ้นส่วน 2 ส่วน และ 4 ส่วนร่วมกับการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้น TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นมากที่สุด กลับมีจำนวนใบน้อยที่สุด เพียง 4.5 และ 2.82 ใบต่อต้น ส่วน การเพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็ง คือ 3.28 และ 1.40 ใบ เนื่องจากใน 1 ต้น มีจำนวนต้นเกิดใหม่ มากซึ่งเกิดเป็นต้นเล็ก จึงมีจำนวนใบต่อต้นจำนวนน้อย

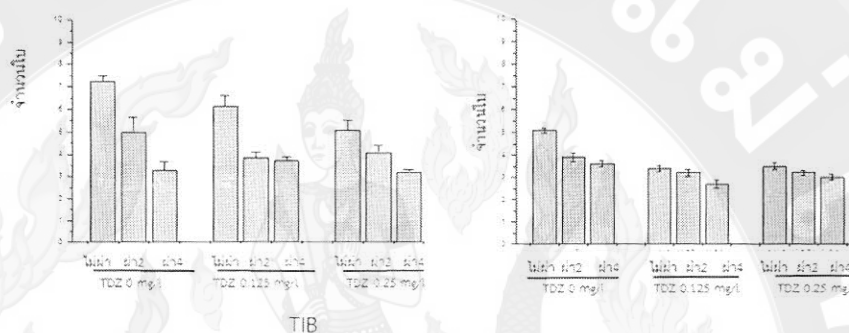
จำนวนใบที่เกิดในรอบที่สอง ใบจะมีจำนวนใบน้อยกว่าในรอบที่ 1 โดยใบเริ่มมีการลดรูปลง อย่างเห็นได้ชัด โดยเฉพาะขึ้นส่วนที่ผ่า 2 และ ผ่า 4 ส่วน ที่เพาะเลี้ยงในที่ TDZ 0.125 มิลลิกรัมต่อ ลิตร ที่เพาะเลี้ยงใน TIB มีจำนวนใบต่อขึ้นส่วนเฉลี่ยน้อยกว่า คือ 3.83 และ 3.70 ใบต่อขึ้นส่วน ส่วน อาหารแข็ง มีจำนวนใบเฉลี่ย 3.13 และ 2.40 ใบ เมื่อมีการผ่าขึ้นส่วนมีการผ่าขึ้นส่วน 2 ส่วน และ 4 ร่วมกับการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้น TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนใบลดลงไปอีกเพียง 4 และ 3.2 ใบต่อต้น ส่วนการเพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็ง คือ 3.31 และ 3.00 ใบ จากลักษณะต้น และใบจะผิดรูปไปมากกว่าต้นปกติของต้นในทรีตเมนต์นี้ จึงไม่ได้ใช้ TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตรใน รอบที่ 3

ส่วนในรอบที่ 3 หากเป็นต้นที่ไม่มีการผ่าและไม่มีการใช้ TDZ ต้นจะปกติ คือจำนวนใบอยู่ ในช่วง 5.80-8.00 ใบต่อต้น ส่วนต้นในอาหารแข็งมีใบ 6.40 ใบ ในขณะที่ขึ้นส่วนที่ผ่า 2 และ ผ่า 4 ส่วน ที่เพาะเลี้ยงใน TIB ในอาหารที่มี TDZ 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนใบเฉลี่ย 3.96 และ 3.86 ใบต่อต้น ส่วนอาหารแข็งมีจำนวนใบ 3.5 และ 4.2 ใบต่อต้นตามลำดับ

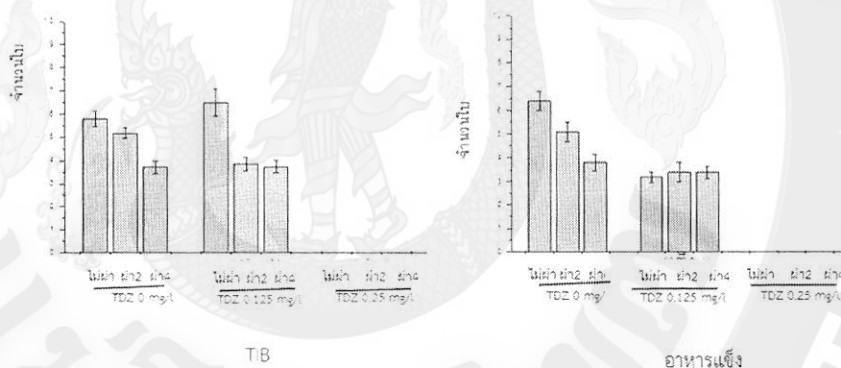
รอบที่ 1



รอบที่ 2



รอบที่ 3



ภาพที่ 17 จำนวนใบต่อต้นของกล้วยหอมทองที่ขึ้นส่วนตั้งต้นแบบไม่ผ่า ผ่า 2 ส่วนและผ่า 4 ส่วนในอาหารเหลว MS ที่มีการเติม TDZ 0, 0.125 และ 0.250 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับระบบอาหารแข็ง 3 รอบ ๆ ละ 6 สัปดาห์

ความกว้างใบ

ต้นที่มาจากชิ้นส่วนตั้งต้นที่ผ่าและไม่ผ่า ที่ได้รับ TDZ ความเข้มข้นต่างๆ กัน และเพาะเลี้ยงในระบบ TIB และ ระบบอาหารแข็ง พบว่าความกว้างใบจะแตกต่างกันออกไปตามปัจจัยที่ได้รับ ชิ้นส่วนที่ไม่ได้ผ่ายอดนั้นลักษณะใบจะแผ่ออก แม้ว่าจะเพาะเลี้ยงในระดับความเข้มข้นใดก็ตาม (ภาพที่ 18)

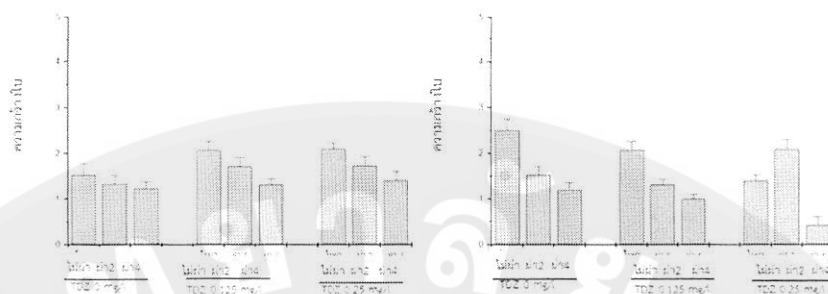
ต้นในระบบ TIB ในรอบที่ 1 ชิ้นส่วนที่ไม่ได้ผ่ายอดนั้นลักษณะใบจะแผ่ออก แม้ว่าจะเพาะเลี้ยงในระดับความเข้มข้นใดก็ตาม เฉลี่ยช่วงความกว้างใบ คือ 1.40-2.04 เซนติเมตร ความกว้างใบในรอบที่ 2 และ 3 คือ 2.01-2.95 เซนติเมตรและ 2.65 -2.73 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ชิ้นส่วนที่ผ่า 2 และผ่า 4 ส่วน ที่เพาะเลี้ยง ใน TDZ 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร ในรอบที่ 1 มีความกว้างใบเฉลี่ยรองลงมา คือ 1.53 และ 1.32 เซนติเมตร ส่วนความกว้างใบในรอบที่ 2 และ 3 คือ 1.78 และ 1.4 เซนติเมตรและ 1.2 และ 1.53 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่หากการผ่าชิ้นส่วน 2 ส่วน และ 4 ส่วน ร่วมกับการเพาะเลี้ยงด้วย TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีความกว้างใบน้อยที่สุด คือ 1.7 และ 1.23 เซนติเมตร

ส่วนอาหารแข็ง ในรอบที่ 1 ต้นที่ไม่มีการผ่ามีความกว้างใบ 1.40-2.50 เซนติเมตร ในรอบที่ 2 และ 3 มีความกว้างใบ 1.52-2.30 เซนติเมตรเมื่อมีการผ่าชิ้นส่วน 2 ส่วน และ 4 ส่วน ร่วมกับการเพาะเลี้ยงที่ระดับความเข้มข้น TDZ 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร ในรอบที่ 1 ทำให้ใบมีความกว้างน้อย คือ 1.24 และ 1.35 เซนติเมตร ในรอบที่ 2 และ 3 มีความกว้างใบ 1.11 และ 1.43 เซนติเมตรต่อต้นตามลำดับ หากเพิ่ม TDZ เป็น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ใบขนาดลดลง คือ 0.55 และ 0.29 เซนติเมตร

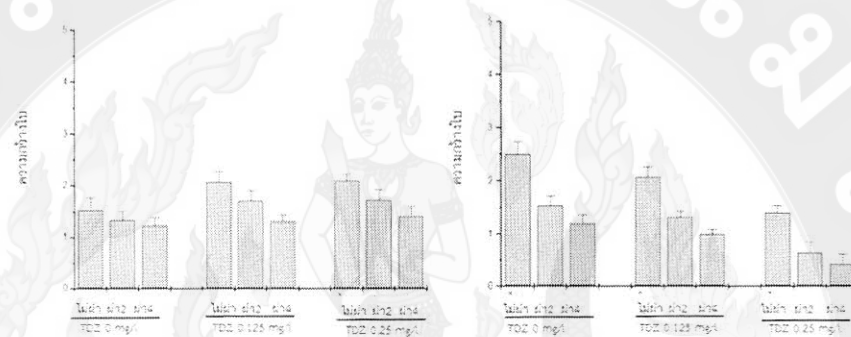
ความยาวใบ

ผลการทดลองความยาวใบต่อต้นมีแนวโน้มคล้ายความกว้างใบต่อต้น ทั้งการทดลองที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB และ ระบบอาหารแข็ง ในการเพาะเลี้ยงรอบที่ 1 (ภาพที่ 19) พบว่า ชิ้นส่วนที่ไม่ได้ผ่ายอดนั้นลักษณะใบจะมีความยาวมากที่สุด แม้ว่าจะเพาะเลี้ยงในระดับความเข้มข้น TDZ ใดก็ตาม เฉลี่ยช่วงความยาวใบ คือ 3.76-4.01 เซนติเมตร และ 1.29-3.64 เซนติเมตร ในขณะที่ชิ้นส่วนที่ผ่า 2 ส่วน และผ่า 4 ส่วน ที่เพาะเลี้ยง ที่ระดับความเข้มข้น TDZ 0.125 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวใบเฉลี่ยลดลงตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงรอบที่ 2 และ 3 ต่อเนื่องกัน พบว่า ใบเกิดการลดรูปมากยิ่งขึ้นทำให้มีความยาวใบน้อยเนื่องจากใบได้รับอิทธิพลของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่สูงขึ้นตามลำดับเป็นเวลานานขึ้น

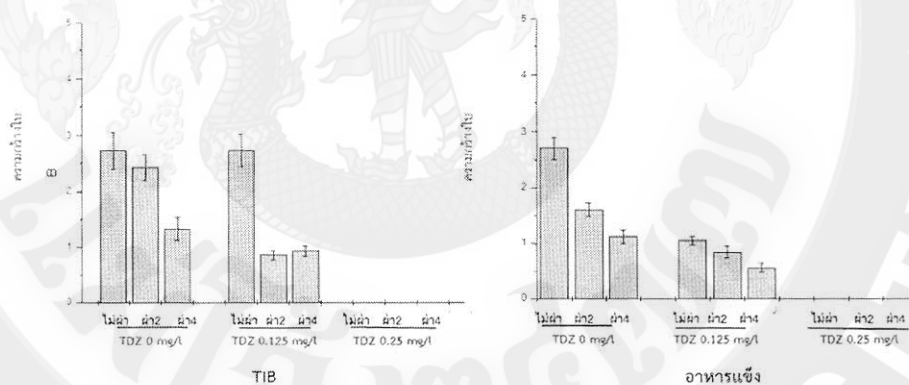
รอบที่ 1



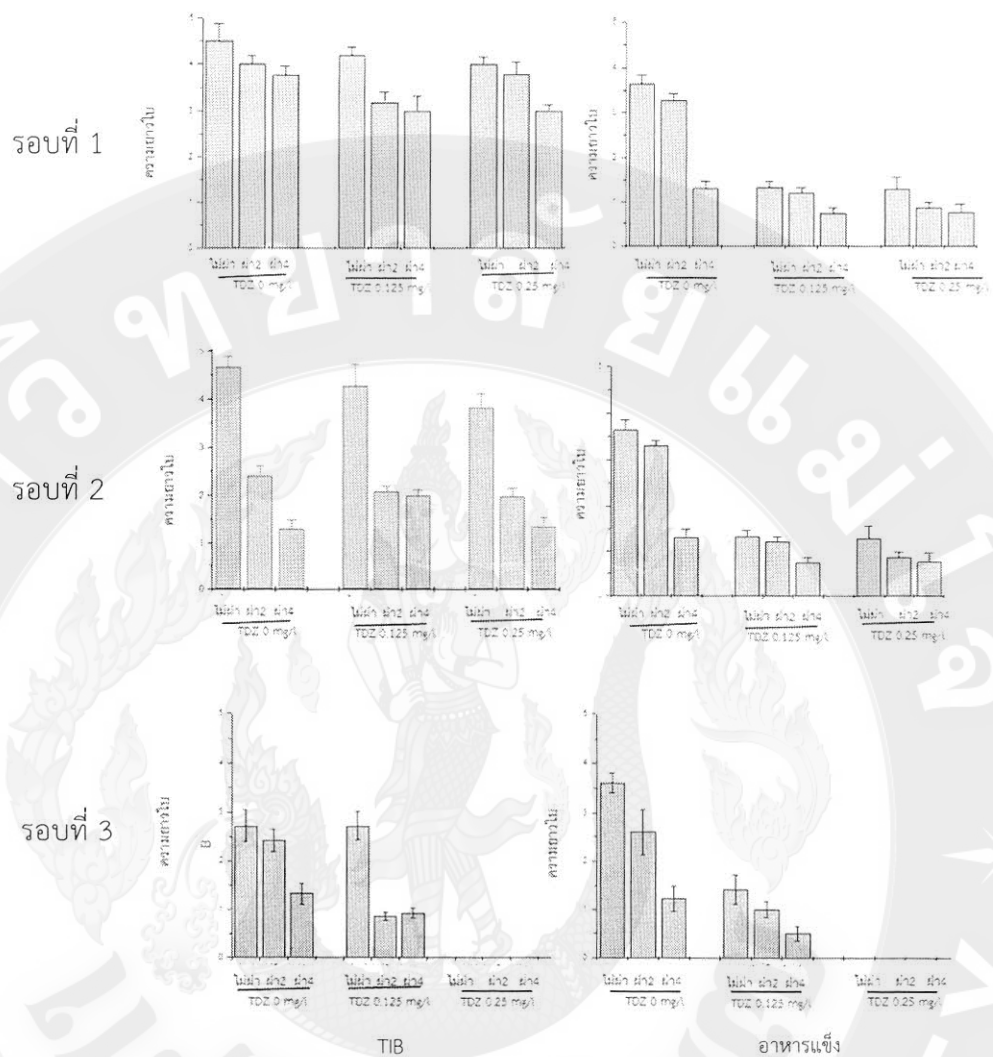
รอบที่ 2



รอบที่ 3



ภาพที่ 18 ความกว้างใบของต้นกล้วยหอมทองที่ขึ้นส่วนตั้งต้นแบบไม่ผ่า ผ่า 2 ส่วนและผ่า 4 ส่วน
 ในอาหารเหลว MS ที่มีการเติม TDZ 0, 0.125 และ 0.250 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยง
 ในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวขนาดภาชนะ 700 มิลลิตรเปรียบเทียบ
 กับระบบอาหารแข็ง 3 รอบ ๆ ละ 6 สัปดาห์



ภาพที่ 19 ความยาวใบของต้นกล้วยหอมทองที่มีลักษณะขึ้นส่วนแบบไม่ผ่า ผ่า 2 ส่วนและผ่า 4 ส่วน ในอาหารเหลว MS ที่มีการเติม TDZ 0 0.125 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยง ในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มหัวคราวขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับ ระบบอาหารแข็ง 3 รอบ ๆ ละ 6 สัปดาห์

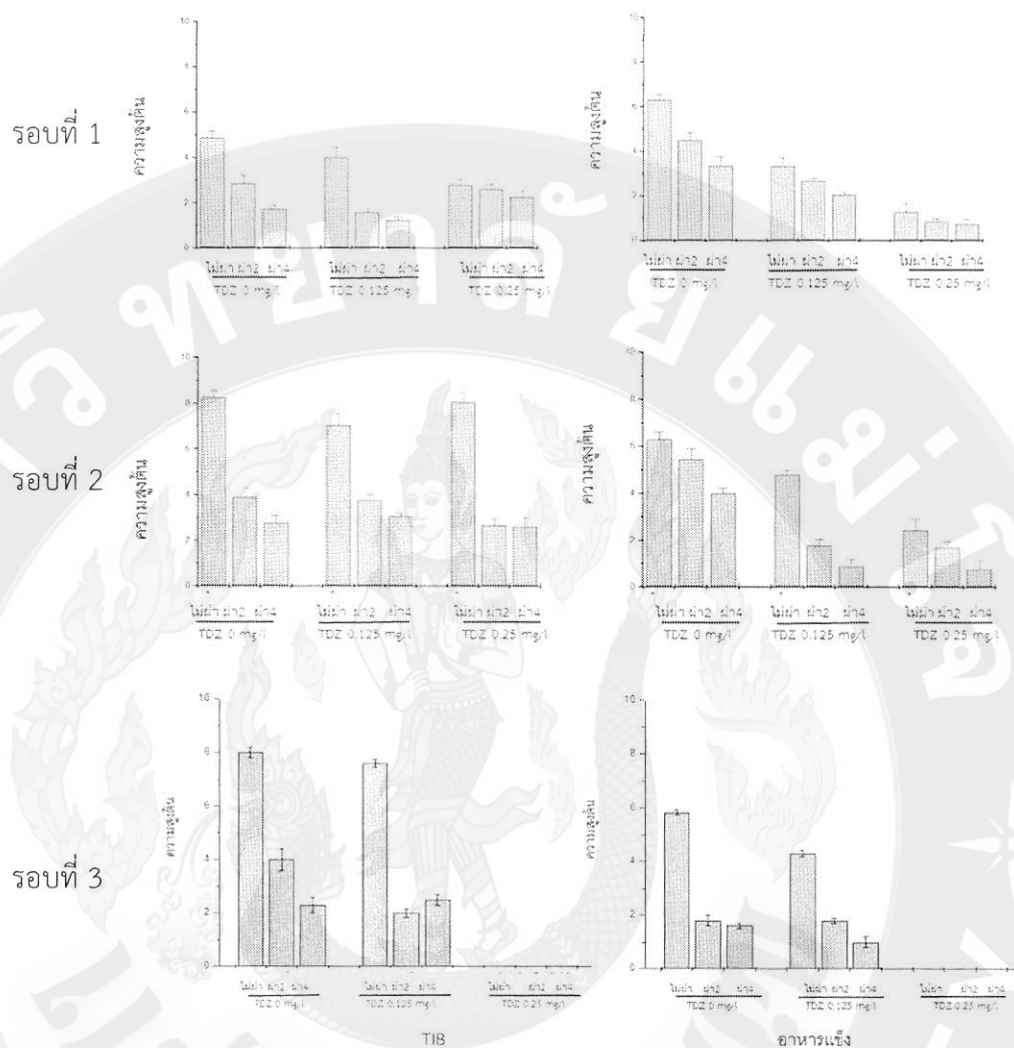
ความสูงต้น

จากภาพที่ 20 แสดงผลการทดลองเปรียบเทียบความสูงต้นระหว่างการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB และ ระบบอาหารแข็ง ที่มีการผ่านชิ้นส่วนร่วมกับ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า ชิ้นส่วนที่ไม่ได้ผ่านยอมีความสูงต้นมากที่สุด แม้ว่าจะเพาะเลี้ยงในระดับความเข้มข้นใดก็ตาม

น้ำหนักสดต่อต้น

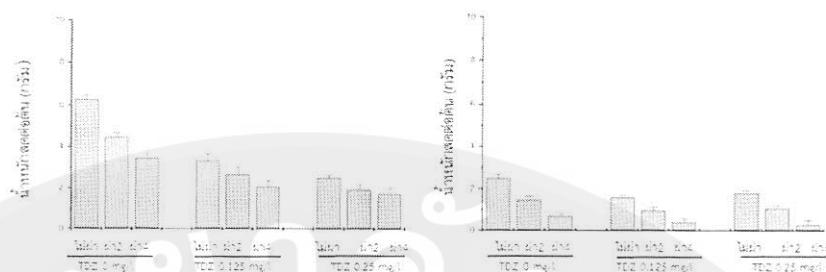
จากภาพที่ 21 พบว่า ในการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนกล้วยในระบบ TIB รอบที่ 1 ชิ้นส่วนที่ไม่ได้ผ่านยอมีน้ำหนักต้นมากที่สุด แม้ว่าจะเพาะเลี้ยงใน TDZ ระดับความเข้มข้นใดก็ตาม ในขณะที่ชิ้นส่วนที่ผ่าน 2 ส่วน และผ่าน 4 ส่วน ที่เพาะเลี้ยงใน TDZ 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสดต่อต้นเฉลี่ย คือ 2.70 และ 2.07 กรัมตามลำดับ เมื่อมีการผ่านชิ้นส่วน 2 และ 4 ส่วนร่วมกับการเพาะเลี้ยงที่ TDZ 0.250 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีน้ำหนักสดต่อต้นน้อยลง คือ 0.93 - 1.72 กรัม

ส่วนอาหารแข็ง ชิ้นส่วนที่ไม่ผ่านมีน้ำหนักสดต่อต้นเฉลี่ย 0.54 - 2.25 กรัม ในขณะที่ชิ้นส่วนที่ผ่าน 2 ส่วน และ 4 ส่วนร่วมกับการเพาะเลี้ยง TDZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักสดต่อต้นเฉลี่ย 1.09 และ 0.83 กรัมตามลำดับ ส่วนชิ้นส่วนที่ผ่าน 2 ส่วน และ 4 ส่วนและเพาะเลี้ยงที่ TDZ 0.250 มิลลิกรัมต่อลิตรมีน้ำหนักสดต่อต้นลดลง คือ 0.40 และ 0.34 กรัมต่อต้นตามลำดับ จากการสังเกตพบว่าการเพาะเลี้ยงที่ TDZ ความเข้มข้นสูงเกิดการแตกต้นจำนวนมากในหนึ่งชิ้นส่วนทำให้ต้นที่เกิดออกมามีขนาดเล็กน้ำหนักสดจึงน้อย

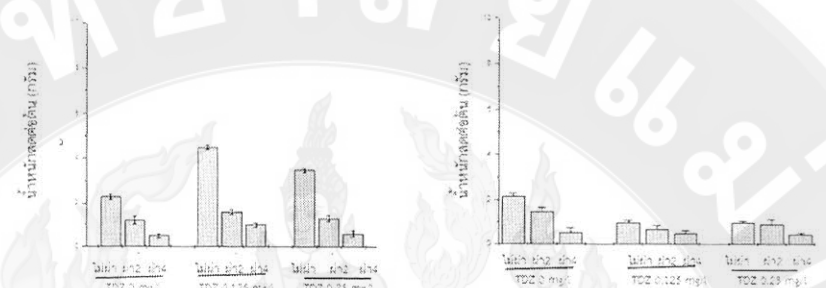


ภาพที่ 20 ความสูงต้นของกล้วยหอมทองที่ได้จากต้นที่ไม่ผ่า ผ่า 2 ส่วนและผ่า 4 ส่วน ในอาหารเหลว MS ที่มีการเติม TDZ 0, 0.125 และ 0.250 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มหัวควรวขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับระบบอาหารแข็ง 3 รอบ

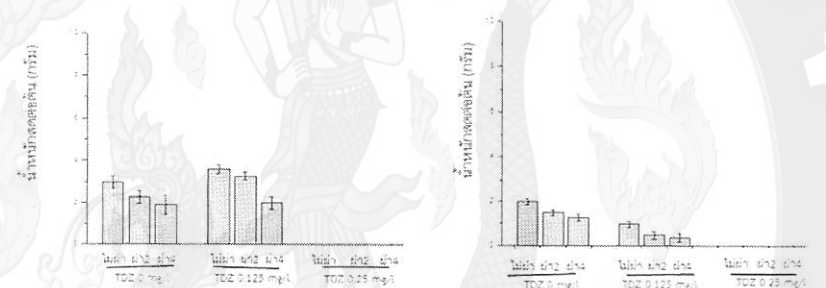
รอบที่ 1



รอบที่ 2



รอบที่ 3



TIB

อาหารแข็ง

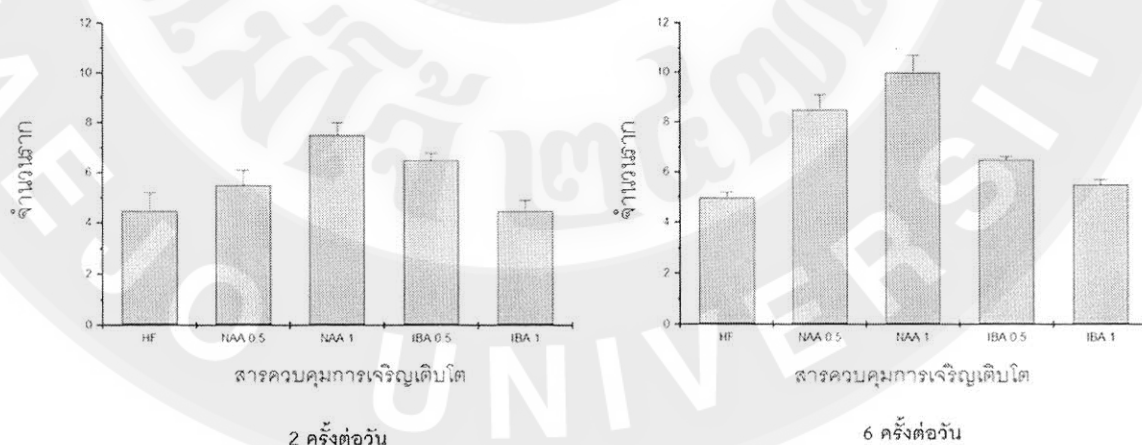
ภาพที่ 21 น้ำหนักสดต่อตันของกล้วยหอมทองที่มาจากชิ้นส่วนที่ไม่ผ่า ผ่า 2 ส่วนและผ่า 4 ส่วนในอาหารเหลว MS ที่มีการเติม TDZ 0, 0.125 และ 0.250 มิลลิกรัมต่อลิตรเพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอกเตอร์จุ่มชั่วคราวขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับระบบอาหารแข็ง 3 รอบ ๆ ละ 6 สัปดาห์

ผลการวิจัยที่ 3 ผลของการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการยืดอายุและการออกราก
ของต้นกล้วยในระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร

ในการทดลองการออกรากต้นกล้วยในระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ โดยให้อาหาร 2 ครั้งต่อวัน เปรียบเทียบกับการให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน ผลการทดลองดังนี้

จำนวนรากต่อต้น

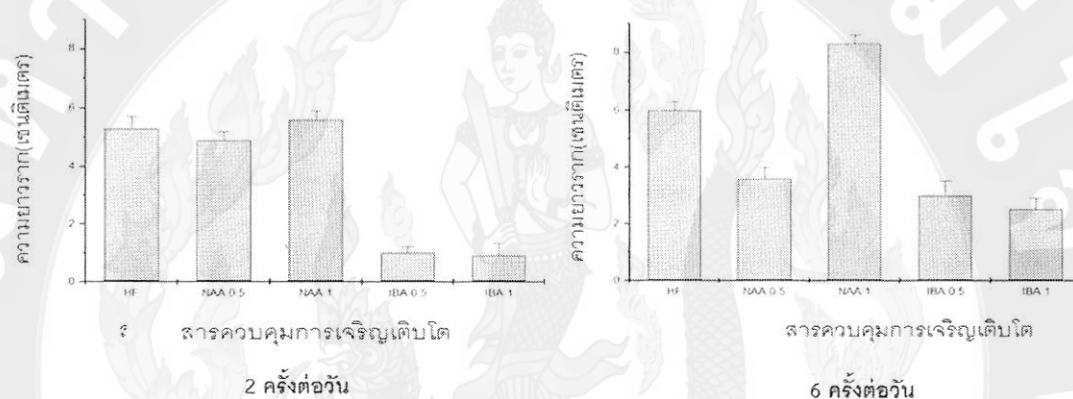
การเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติมออกซิน 2 ชนิด NAA และ IBA ที่ระดับความเข้มข้น 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ (ภาพที่ 22) พบว่า การให้อาหาร 6 ครั้งต่อวันมีแนวโน้มที่มีจำนวนรากมากกว่าการให้อาหาร 2 ครั้งต่อวัน โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนรากเฉลี่ย 10 รากต่อต้น รองลงมาคือ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีราก 8.4 และ 6.5 รากตามลำดับ และจำนวนรากน้อยที่สุดใน IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีราก 4 รากต่อต้นเท่านั้น ส่วนการให้อาหาร 2 ครั้งต่อวัน สารควบคุมการเจริญเติบโตทั้ง 2 ชนิดในทุกะดับความเข้มข้นมีจำนวนรากต่อต้นในรูปแบบที่คล้ายกับการให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน แต่จำนวนรากต่อต้นน้อยกว่า



ภาพที่ 22 จำนวนรากต่อต้นของกล้วยหอมทองที่มาจากการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB 2 และ 6 ครั้งต่อวัน ในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA และ IBA ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์

ความยาวราก

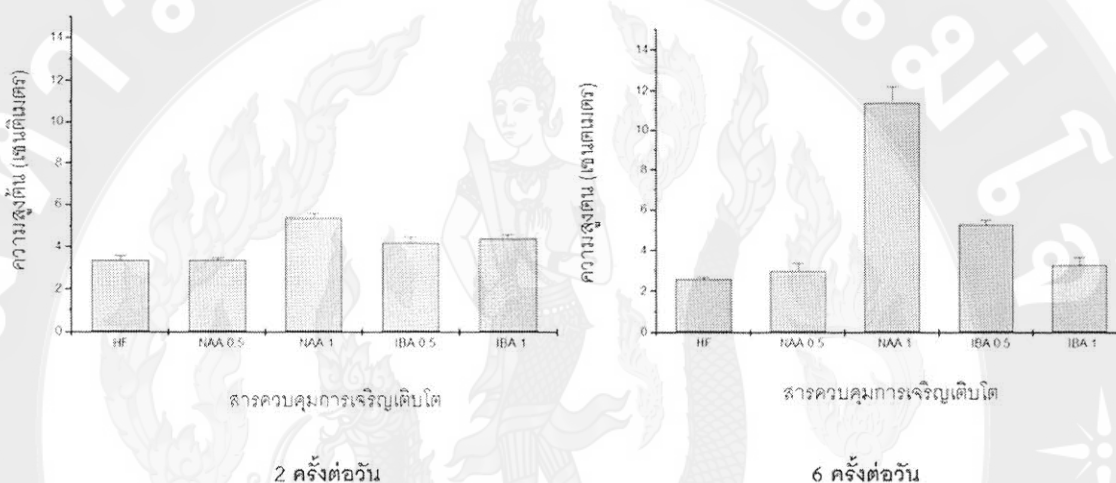
ความยาวรากของต้นที่ได้รับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ไม่ว่าจะเป็นการให้อาหาร 2 ครั้งต่อวัน หรือ 6 ครั้งก็ตามจะมีรากยาวที่สุด คือ 6 และ 8 เซนติเมตรตามลำดับ (ภาพที่ 23) ทั้งนี้ต้นที่เพาะเลี้ยงในอาหารที่ไม่มีออกซินมีความยาวรากเฉลี่ย 6 เซนติเมตร และเป็นที่น่าสนใจว่าต้นที่ได้รับ IBA ไม่ว่าจะ เป็น 0.5-1 มิลลิกรัมต่อลิตร รากกลับสั้นมากโดยต้นที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB ที่ให้อาหาร 2 ครั้งต่อวันรากยาวเพียง 1.5 เซนติเมตรเท่านั้น และหากให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน รากที่เพาะเลี้ยงในอาหาร IBA มีความยาวเพิ่มขึ้นแต่ไม่เกิน 4 เซนติเมตร



ภาพที่ 23 ความยาวรากของกล้วยหอมทองที่มาจากการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเหลวในระบบ TIB 2 และ 6 ครั้งต่อวัน ในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA และ IBA ความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์

ความสูงต้น

จากภาพที่ 24 แสดงผลการทดลองเปรียบเทียบความสูงต้นระหว่างการเพาะเลี้ยง โดยให้อาหาร 2 ครั้งต่อวัน และ 6 ต่อวันนาน 5 นาที่ พบว่าต้นที่ได้มีความสูงมากที่สุดคือ ในอาหารที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสูงต้น 11.4 และ 5.4 เซนติเมตรตามลำดับ รองลงมา ได้แก่ IBA และ อาหารที่ปราศจากออกซินมีความสูงต้นต้นเฉลี่ย ที่ 2.6-5.8 และ 3.4-4.2 เซนติเมตรตามลำดับ



ภาพที่ 24 ความสูงต้นของกล้วยหอมทองที่มาจากการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารเหลวในระบบ TIB 2 และ 6 ครั้งต่อวัน ในอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA และ IBA ความเข้มข้นแตกต่างกัน เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์

ผลการวิจัยที่ 4 ผลการเพิ่มศักยภาพการยืดยาวและออกรากของต้นกล้วย ด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาดภาชนะ 20 ลิตร

ลักษณะการเกิดต้นกล้วยหอมทองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์

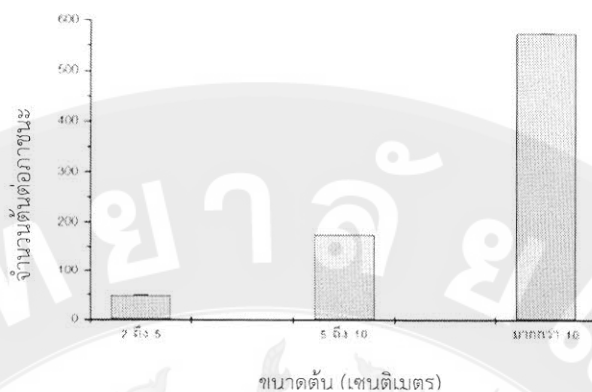
หลังจากที่ได้ทำการศึกษาการยืดยาวและการออกรากของต้นกล้วยด้วย TIB ขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร ในงานวิจัยที่ 3 จึงได้นำผลการทดลองเพาะเลี้ยงต้นกล้วยนั้นมาไว้ในระบบ TIB ขนาดอุตสาหกรรม คือขนาดภาชนะ 20 ลิตร ที่ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน ครึ่งละ 5 นาที เป็นเวลานาน 6 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้วยหอมทองที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS มีการมีการเจริญเป็นต้นที่มีใบและราก ที่สมบูรณ์ (ภาพที่ 25) แต่อย่างไรก็ตามพบต้นที่มีขนาดแตกต่างกัน ซึ่งจากการสังเกตพบว่า ต้นเล็กที่อยู่ตรงขอบใบของต้นมีการเจริญเติบโตขึ้นมาพร้อมทั้งออกราก จึงทำให้จำนวนต้นเพิ่มขึ้น



ภาพที่ 25 ต้นกล้วยหอมทองที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร ที่ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวันครึ่งละ 5 นาที ในอาหารสูตร MS ที่มี NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์

จำนวนต้นต่อภาชนะ

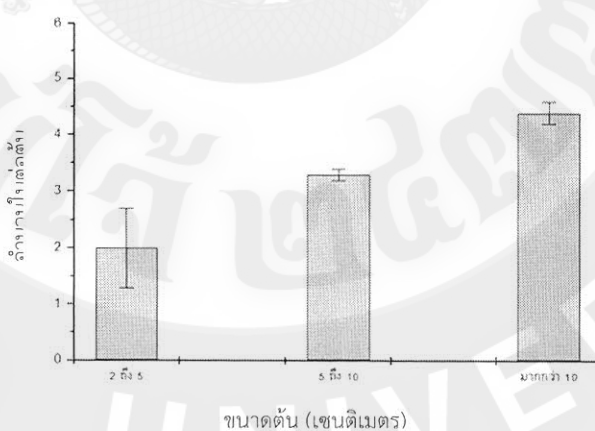
จากภาพที่ 26 พบว่า กล้วยหอมทองที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์มีจำนวนต้นที่เพิ่มมากขึ้นรวมทั้งสิ้น 800 ต้น โดยสามารถแยกขนาดต้นที่ได้หลังการเพาะเลี้ยงต้น คือ ขนาด 2-5 เซนติเมตร พบมีจำนวนต้นเท่ากับ 50 ต้น ในขณะที่ต้นสูง 5-10 เซนติเมตร มีจำนวนต้นเท่ากับ 175 ต้น และพบว่าต้นที่สูงมากกว่า 10 เซนติเมตร มีจำนวนต้นสูงถึง 575 ต้น ทั้งนี้จากการสังเกตพบว่า ต้นกล้วยขนาดเล็กที่ติดมาสามารถเจริญเติบโตเป็นต้นขนาดใหญ่และมีใบแผ่จึงทำให้มีต้นเพิ่มขึ้น



ภาพที่ 26 จำนวนต้นต่อภาชนะของต้นกล้วยหอมทองขนาดต่าง ๆ ที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาด 20 ลิตร ที่ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวันครั้งละ 5 นาที ในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์

จำนวนใบต่อต้น

จากการเพาะเลี้ยงต้นกล้วยหอมทองใน TIB ขนาด 20 ลิตร นาน 6 สัปดาห์ พบว่าต้นกล้วยจำนวนใบใหม่มากขึ้นและจำนวนใบนั้นขึ้นอยู่กับขนาดของต้น โดยต้นที่มีขนาดมากกว่า 10 เซนติเมตร และต้นขนาด 5-10 เซนติเมตร มีจำนวนใบเฉลี่ยไม่แตกต่างจากกัน คือ 4.3 และ 3.5 เซนติเมตร ส่วนต้นที่มีขนาด 2-5 เซนติเมตรมีจำนวนใบน้อยที่สุด คือ 2 เซนติเมตร (ภาพที่ 27)



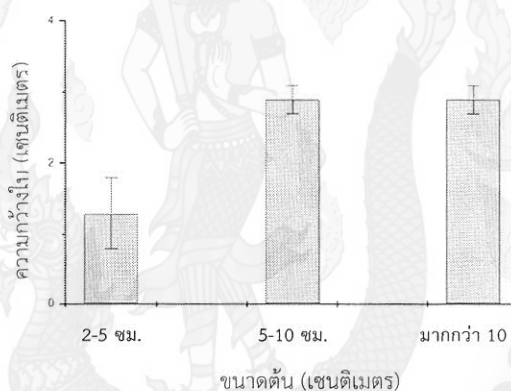
ภาพที่ 27 จำนวนใบต่อต้นของต้นกล้วยหอมทองขนาดต่าง ๆ ที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาดภาชนะ 20 ลิตร ที่ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวันครั้งละ 5 นาที ในอาหารสูตร MS เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์

ความกว้างใบ

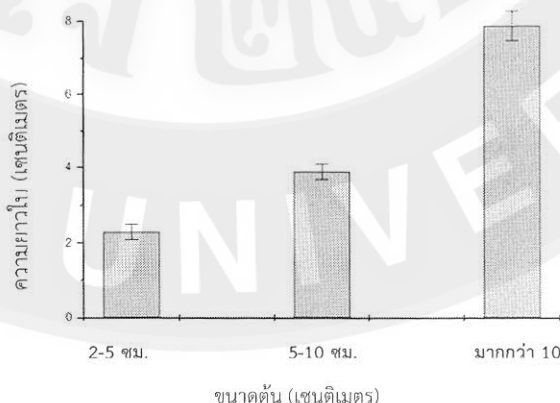
ต้นกล้วยหอมทองที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์มีความกว้างใบมาก ทั้งนี้ตามขนาดของต้น โดยต้นที่มีขนาดมากกว่า 10 เซนติเมตร และต้นขนาด 5-10 เซนติเมตร มีความกว้างใบเพียง 3 เซนติเมตร ส่วนต้นที่มีขนาด 2-5 เซนติเมตร มีความกว้างใบน้อย คือ 1.6 เซนติเมตร (ภาพที่ 28)

ความยาวใบ

ความยาวใบของต้นกล้วยหอมทองที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์เป็นไปในทางเดียวกันกับความกว้างใบ โดยต้นที่มีขนาดมากกว่า 5-10 เซนติเมตรตามลำดับ มีความยาวใบเฉลี่ยมากที่สุด คือ 7.9 เซนติเมตร ส่วนต้นขนาด 2-5 เซนติเมตร และต้นที่มีขนาด 2-5 เซนติเมตรมีความยาวใบ คือ 2.3 และ 3.8 เซนติเมตร (ภาพที่ 29)



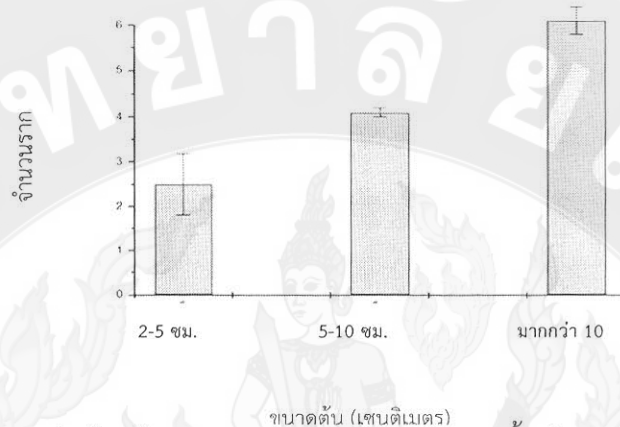
ภาพที่ 28 ความกว้างใบของต้นกล้วยหอมทองขนาดต่าง ๆ ที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์ ขนาดภาชนะ 20 ลิตร ที่ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวันครั้งละ 5 นาที่ ในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์



ภาพที่ 29 ความยาวใบของต้นกล้วยหอมทองขนาดต่าง ๆ ที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์ ขนาด 20 ลิตร ที่ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวันครั้งละ 5 นาที่ ในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์

จำนวนรากต่อต้น

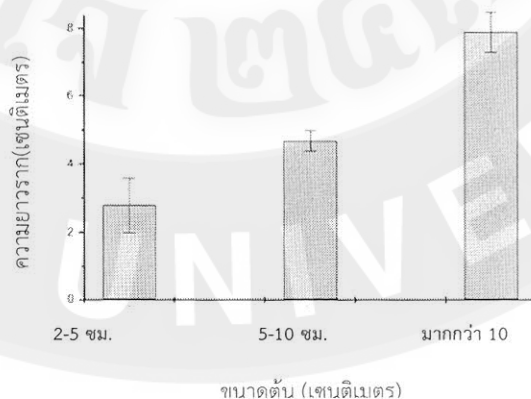
ต้นกล้วยหอมทองที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอกเตอร์ แม้ว่าต้นที่เกิดจะมีขนาดแตกต่างกัน แต่จำนวนรากที่เกิดขึ้นมีจำนวนใกล้เคียงกัน คือ 4-6 ราก (ภาพที่ 30)



ภาพที่ 30 จำนวนรากต่อต้นกล้วยหอมทองขนาดต่าง ๆ ที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอกเตอร์ขนาดภาชนะ 20 ลิตร ที่ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวันครั้งละ 5 นาที ในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์

ความยาวราก

แม้ว่าต้นกล้วยหอมทองมีรากเกิดขึ้น แต่ความยาวรากจะแตกต่างกันออกไปตามขนาดของต้น ต้นโตรากจะยาวกว่า โดยต้นที่มีขนาดมากกว่า 10 เซนติเมตร มีความยาวรากมากที่สุด คือ 7.9 เซนติเมตร รองลงมาขนาดต้น 5-10 เซนติเมตร มีความยาวราก คือ 4.2 เซนติเมตร และ ขนาดต้น 2-5 เซนติเมตร มีความยาวรากเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ 2.3 เซนติเมตร (ภาพที่ 31)



ภาพที่ 31 ความยาวรากของต้นกล้วยหอมทองขนาดต่าง ๆ ที่เพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอกเตอร์ขนาดภาชนะ 20 ลิตร ที่ให้อาหาร 6 ครั้งต่อวันครั้งละ 5 นาที ในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์

การย้ายต้นกล้วยจากระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวขนาด 20 ลิตร ย้ายออกปลูกเรือนโรง

หลังจากเพาะเลี้ยงต้นในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวขนาด 20 ลิตร เป็นระยะเวลา นาน 6 สัปดาห์ จึงนำต้นที่ได้ปลูกในเรือนโรง ดังแสดงไว้ใน ภาพที่ 32 ต้นที่ได้เมื่อย้ายปลูกในเรือน โรงรอดตายสูงถึง 95% ขึ้นไป แสดงว่าต้นกล้วยที่ได้จากระบบไบโอรีแอคเตอร์นี้เป็นต้นที่แข็งแรง คุณภาพดี



ภาพที่ 32 ต้นกล้วยจากการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ขนาดภาชนะ 20 ลิตร นำมาอนุบาล
ต้นในเรือนโรงเป็นระยะเวลานาน 6 สัปดาห์

ผลการวิจัยที่ 5 การสร้างโมเดลระบบผลิตต้นกล้วยด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์

จากการทดลองทั้งหมดสามารถวางแผนการผลิตต้นกล้วยในระยะเริ่มต้นจนถึงระยะออกปลูกได้สามารถสรุปออกมาเป็นโมเดลเพื่อใช้ประกอบการผลิตต้นกล้วยในระดับอุตสาหกรรมโดยรวมดังนี้



ภาพที่ 33 โมเดลการผลิตต้นกล้วยด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราว
เพื่อรองรับอุตสาหกรรมการผลิตต้นกล้วย

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยหอมทอง โดยเพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาดเล็กตลอดจนการเพาะเลี้ยงในระดับอุตสาหกรรม แต่ละปัจจัยมีผลแตกต่างกัน ดังต่อไปนี้

ในระยะชักนำให้เกิดต้นได้ศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนตั้งต้น ซึ่งในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้น มักพบปัญหาที่สำคัญคือ การฟอกชิ้นส่วนพืชเพื่อให้ชิ้นส่วนที่จะนำมาเพาะเลี้ยงปราศจากเชื้อจุลินทรีย์นั้นทำได้ยาก เนื่องจากมีปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ลักษณะของชิ้นส่วนพืช ตำแหน่งของพืชที่ต้องการขยายพันธุ์ อายุพืช สภาพแวดล้อมของต้นแม่พันธุ์ จากงานวิจัยนี้ได้นำหน่อมาในช่วงฤดูฝนและสภาพแวดล้อมอยู่ในฟาร์มเลี้ยงไก่ซึ่งมีสภาพที่ทำให้การสะสมของจุลินทรีย์มากกว่าปกติ จึงทำให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นส่วนตั้งต้นเพียง 50% เท่านั้น แนวทางแก้ไขควรเป็นไปตามที่ Debergh and Maene (1981) ได้แนะนำ คือ การนำหน่อกล้วยที่ต้องการแยกมาปลูกในเรือนโรงที่สามารถควบคุมความสะอาดและการปนสารเคมีฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ให้อยู่ในระดับที่สามารถนำมาเป็นชิ้นส่วนตั้งต้น และการปลูกในเรือนโรงนี้ยังสามารถทยอยนำต้นกล้วยมาใช้เป็นชิ้นส่วนตั้งต้นจากหน่อที่แตกออกมาเรื่อย ๆ ได้ อีกประการหนึ่งในงานวิจัยนี้ใช้สารเคมีฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนตั้งต้น คือ $HgCl_2$ 0.1% ฟอกนาน 5 นาที พบว่ามีประสิทธิภาพมากที่สุดในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Titov et al. (2006) ที่รายงานว่า การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนตาดอกกล้วยด้วย $HgCl_2$ 0.1% นาน 6 นาที มีประสิทธิภาพในการฟอกฆ่าเชื้อพื้นผิวตาดอกกล้วยดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงถึง 100% ส่วนสารเคมีอีกชนิดหนึ่งที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย คือ $NaClO$ หรือคลอรีน แต่มีรายงานว่าคลอรีนไม่เป็นอันตรายต่อร่างกายของผู้ทำงานมากนัก (รังสฤษดิ์, 2545) แต่ประสิทธิภาพในการฟอกฆ่าเชื้อหน่อกล้วยนั้นต่ำมาก ในงานวิจัยนี้การใช้ $NaClO$ ไม่สามารถกำจัดเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียได้อย่างสมบูรณ์ ยังมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนสูง เช่นเดียวกับรายงานของ Mudiyanselage et al. (2016) ที่รายงานว่าประสิทธิภาพของ $NaClO$ ต่ำมาก เขาพบว่า $NaClO$ 0.5% นาน 7 นาที มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนสูงถึง 70% และแม้ว่าเพิ่มความเข้มข้นให้สูงขึ้นเป็น 1% และเพิ่มเวลาจาก 5 เป็น 10 นาที ก็ยังพบการปนเปื้อนแต่เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนลดลง แต่ก็ยังสูงกว่า 35% แต่หากใช้ $NaClO$ 1% นาน 15 นาที ยังพบการปนเปื้อน 20% นอกจากนี้การใช้เวลาในการฟอกฆ่าเชื้อนานถึงแม้จะทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้แต่อาจทำลายชิ้นส่วนพืชให้ตายได้เช่นกัน แต่อย่างไรก็ตามในงานวิจัยนี้ เมื่อนำชิ้นส่วนที่เกิดรามาฟอกฆ่าเชื้อซ้ำอีกรอบสามารถกำจัดราได้หมด ดังนั้น อาจต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในเรื่องการใช้สารละลายเคมีหลายชนิดร่วมกันเพื่อส่งเสริมประสิทธิภาพการฟอกฆ่าเชื้อให้ดีขึ้น ดังเช่นงานของ Goswami and Handique (2013) ที่ได้ทำการ

ทดสอบสารฆ่าเชื้อ 2 ชนิด คือ NaClO (0.5 และ 1.0%) ร่วมกับ HgCl_2 0.1% ฟอกนาน 5, 7, 10 และ 15 นาทีตามลำดับ ทดสอบกับกล้วย 3 สายพันธุ์ พบว่า เมื่อฟอกฆ่าเชื้อด้วย HgCl_2 หรือ NaClO อย่างเดียว มีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อต่ำในทุกระดับความเข้มข้น แต่เมื่อนำ HgCl_2 10% ฟอกนาน 15 นาทีตามด้วย NaClO 0.1% ฟอกนาน 7 นาที มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนน้อยเพียง 10-25% และ เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงถึง 75-90%

ในระยะเพิ่มปริมาณผลของปัจจัยทั้งสาม ได้แก่ ระบบ TIB ความเข้มข้นของ TDZ และการผ่าตัด มีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการเพิ่มปริมาณต้นอย่างเห็นได้ชัด โดยการเพาะเลี้ยงในระบบ TIB สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงได้ดี จากงานวิจัยครั้งนี้พบว่า ระบบ TIB สามารถเพิ่มปริมาณต้นกล้วยได้ดีกว่าระบบอาหารแข็ง สำหรับการเพิ่มปริมาณต้นกล้วยในระบบ TIB ที่มีการให้อาหาร 6 ครั้งต่อวันครั้งละ 5 นาทีสามารถเพิ่มปริมาณต้นได้ดี เช่นเดียวกับรายงานของ นพมณี และคณะ (2553) ที่ได้ศึกษาการพัฒนาระบบการผลิตต้นพันธุ์อ้อยปลอดโรคด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวขนาดอุตสาหกรรม ที่เพาะเลี้ยงในภาชนะขนาด 20 ลิตร สามารถเพาะเลี้ยงต้นอ้อยได้มากถึง 5,000 ต้นต่อภาชนะ ซึ่งมากกว่าระบบอาหารแข็ง และต้นอ้อยที่ได้แข็งแรง คุณภาพสม่ำเสมอ นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Jimenez et al. (1999) ที่ทดสอบการใช้ระบบ TIB เพาะเลี้ยงมันฝรั่ง 2 สายพันธุ์ คือ 'Desiree' และ 'Atlantic' พบว่ามันฝรั่งทั้ง 2 สายพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB มีการเจริญเติบโตของต้นได้ดีกว่าการเพาะเลี้ยงในระบบอาหารแข็งอย่างชัดเจน ลักษณะสัณฐานต้นที่ดีกว่า คือ ความสูงต้น น้ำหนักสด ขนาดหัวมันฝรั่ง ทั้งนี้เปอร์เซ็นต์การเกิดหัวจั่วในระบบ TIB ส่วนใหญ่มีขนาดหัวเฉลี่ยมากกว่า 6 มิลลิเมตร ประมาณ 62-72% ซึ่งเป็นขนาดเหมาะกับการนำมาใช้ในเชิงพาณิชย์ สามารถเก็บได้ในระยะเวลานาน

อีกปัจจัยหนึ่งในการเพิ่มปริมาณต้นคือ การผ่าชิ้นส่วน นำต้นกล้วยมาผ่าตามแนวยาว ซึ่งผ่าโดนส่วนยอดทำให้ตาข้างเกิดการพัฒนา และ เติบโตขึ้นมาได้ การที่ผ่าตามแนวยาวนี้เป็นการทำลายตายอด โดยทั่วไปต้นพืชมีปรากฏการณ์ apical dominance คือ ตายอดข่มตาข้างไม่ให้เกิดการแตกตา (Opik and Rolfe, 2005) แต่เมื่อมีการทำลายส่วนของยอดออกไปทำให้ไม่เกิดการข่มตาข้าง ตาข้างจึงสามารถแตกขึ้นมาและเพิ่มจำนวนได้ จึงมีการนำวิธีการนี้มาใช้เพิ่มประสิทธิภาพของการขยายพันธุ์ได้ ในกรณีของงานวิจัยนี้ต้นกล้วยเมื่อถูกผ่าตามแนวยาว ส่วนยอดจะถูกทำลาย ทำให้ตาข้างสามารถพัฒนาและเติบโตขึ้นมาได้ นอกเหนือจากการทำลายปรากฏการณ์การข่มข้างของตายอดแล้วการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนตั้งต้นจากการผ่า 4 ส่วน ทำให้สามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนตั้งต้นได้ 4 เท่า แม้จะทำให้ชิ้นส่วนตั้งต้นมีขนาดเล็กและตายไปบ้าง แต่ชิ้นส่วนที่ถูกผ่านี้สามารถตอบสนองต่อ TDZ ได้ดีกว่าจึงทำให้ได้จำนวนต้นใหม่ต่อชิ้นส่วนมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด เช่น เมื่อเทียบกับชิ้นส่วนไม่ผ่า ได้จำนวนต้น 1 ต้น แต่ชิ้นส่วนที่ ผ่า 4 ส่วน ได้จำนวนต้นสูงถึง 11.03 ต้นต่อชิ้นส่วน คิดเป็น 5 เท่าของชิ้นส่วนที่ไม่ผ่า เมื่อคิดรวมจำนวนต้นต่อ 1 ชิ้นส่วนของกล้วยแล้วจึงสูงเป็น 20 เท่า

สารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช้ในระยะเพิ่มปริมาณ มีผลต่อการเพิ่มปริมาณต้นมาก โดยเฉพาะผลของการสะสมสารควบคุมการเจริญเติบโตในแต่ละรอบของการเพาะเลี้ยง ในการวิจัยครั้งนี้ได้ใช้ TDZ ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชในกลุ่มไซโตไคนิน ปกติการควบคุมความสมดุลของฮอร์โมนพืชภายในต้นพืชนั้นจะมีกลไกในการสร้างและการสลายฮอร์โมน ในกรณีของ TDZ มีบทบาทไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไซโตไคนินออกซิเดส (cytokinin oxidase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ในการสลายตัวของไซโคไคนินภายในให้ไปเป็นสารประกอบอื่น ซึ่งทำให้บทบาทของไซโตไคนินหายไป แต่หากเมื่อเอนไซม์นี้ถูกขัดขวางการทำงานด้วย TDZ จึงส่งผลให้ไซโตไคนินภายในเพิ่มขึ้น แล้วส่งผลให้ต้นแตกมากขึ้น (Guo et al., 2011) ในงานวิจัยนี้ใช้ TDZ กับต้นกล้วยหอมทองในระยะเพิ่มปริมาณรอบแรกจะเห็นได้ว่า จำนวนต้นที่แตกออกมายังไม่มากนัก แต่เมื่อมีการนำต้นกล้วยไปตัดถ่ายในรอบที่ 2 แล้วเพาะเลี้ยงในอาหารใหม่ที่มี TDZ อีก จำนวนต้นที่ได้เพิ่มขึ้นมากอย่างเห็นได้ชัด โดยเฉพาะต้นที่ใช้ TDZ 0.250 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนต้นสูงมากและเกิดต้นจิวมากขึ้นด้วย เนื่องจากการสะสมไซโตไคนินภายใน ซึ่งอาจจะมากเกินไป เมื่อลดความเข้มข้นของ TDZ เหลือเพียง 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตรในรอบที่ 3 ทำให้เกิดการสะสมอยู่ในระดับที่เหมาะสม ดังนั้นจึงควรระมัดระวังในจำนวนรอบการผลิต คือ ควรมีการควบคุมการตัดถ่ายไม่เกิน 10 ครั้ง ซึ่งมีรายงานของ Sahijram et al. (2003) ว่าควรหลีกเลี่ยงการตัดถ่ายเนื้อเยื่อเกินกว่า 8 รอบ การใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในปริมาณความเข้มข้นที่มากเกินไปในระยะการเพิ่มปริมาณเพราะอาจจะทำให้เกิดผลต่อสารพันธุกรรมของกล้วยได้

ส่วนระยะออกรากนั้นได้จากการศึกษาผลของออกซิน NAA และ IBA ต่อการชักนำการเกิดราก พบว่า ออกซินทั้ง 2 ชนิด สามารถชักนำการเกิดรากได้ แต่จำนวนรากและความยาวรากจะแตกต่างกันออกไป NAA ที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้ต้นกล้วยออกรากมาก และรากยาวที่สุด แต่จากการสังเกตพบว่าในสัปดาห์ที่ 2 ต้นที่ได้รับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เริ่มพบการออกราก เราอาจนำต้นในระยะนี้ออกปลูกได้ ซึ่งเป็นการลดระยะเวลาในการออกปลูกได้ ส่วน IBA ก็สามารถชักนำการออกรากได้เช่นเดียวกัน ดังนั้นออกซินทั้ง 2 ชนิด สามารถชักนำการออกรากของกล้วยได้ ซึ่งใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Govindaraju et al. (2012) ที่ได้ทดลองการใช้ IBA 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า ต้นกล้วยมีจำนวนราก 1 ราก และมีความยาวรากเพียง 0.6 และ 1.22 เซนติเมตร แต่เมื่อเพาะเลี้ยงใน IBA 1.5, 2 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าที่ IBA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนราก 2 รากต่อต้น อีกทั้งยังมีความยาวรากเฉลี่ย 1.3 เซนติเมตร ซึ่งมากกว่า IBA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วน IBA ก็สามารถชักนำการออกรากของต้นกล้วยได้ดีถึงแม้จะมีความยาวรากสั้นกว่า โดยสามารถนำออกปลูกได้ ดังงานวิจัยของ Ahmed et al. (2014), Ngomuo et al. (2013) และ

Paulos et al. (2013) ดังนั้นสารกลุ่มออกซิน NAA และ IBA เหมาะสมต่อการชักนำในระยะออกรากของต้นกล้วยในระบบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

จำนวนครั้งในการให้อาหารของต้นที่เพาะเลี้ยงในระบบ TIB มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้วย ต้นกล้วยที่เพาะเลี้ยงใน TIB ที่ได้รับอาหาร 6 ครั้งต่อวันเจริญเติบโตได้ดีกว่าการเพาะเลี้ยง 2 ครั้งต่อวัน ในงานวิจัยนี้การให้อาหาร 6 ครั้งต่อวันสามารถชักนำการออกรากได้ในต้นกล้วยภายในระยะเวลาเพียง 2 สัปดาห์ สามารถใช้ระยะเวลาออกปลูกในเรือนโรงได้รวดเร็วกว่าปกติ และรากที่ได้มีความสมบูรณ์แข็งแรง (นพมณี และคณะ 2553) ส่วนการใช้ระบบไบโอรีแอคเตอร์ขนาดใหญ่ 20 ลิตร เพื่อยืดยาว และออกรากของต้นกล้วย สามารถทำได้ดี แต่เนื่องจากต้นกล้วยที่เพาะเลี้ยงในระบบนี้จะเติบโตใหญ่ขึ้นมาก แต่ต้นที่ได้เมื่อย้ายปลูกในเรือนโรงรอดตายสูงถึง 90% ขึ้นไป แสดงว่าต้นกล้วยที่ได้จากระบบไบโอรีแอคเตอร์นี้เป็นต้นที่แข็งแรง และคุณภาพดี

ระบบการผลิตต้นกล้วยด้วยเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ จมชั่วคราว ในทุกระยะการผลิตต้นกล้วยมีปัจจัยที่ช่วยส่งเสริมการผลิตต้นกล้วยได้ ในงานวิจัยนี้ศึกษาปัจจัยที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของระบบการผลิตต้นกล้วยซึ่งประกอบด้วย ระยะชักนำการเกิดต้น ระยะเพิ่มปริมาณต้น และระยะการออกราก ซึ่งพิสูจน์ได้ว่ามีปัจจัยเกี่ยวข้องในระยะดังกล่าวสามารถส่งเสริมระบบการผลิตต้นกล้วยได้จริง งานวิจัยนี้สามารถนำไปใช้ในกระบวนการผลิตต้นกล้วยในระดับอุตสาหกรรมได้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

ระยะชักนำให้เกิดต้น

วิธีที่เหมาะสมต่อการฟอกฆ่าเชื้อหน่อกล้วยหอมทองของระบบการผลิตต้นกล้วยด้วยเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่เน้นหนักการใช้ไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวทั้งขนาดภาชนะที่เล็กและ 20 ลิตร เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตต้นกล้วยนั้น สามารถสรุปได้ดังนี้คือ เริ่มจากการตัดหน่อ ที่มีความสูงประมาณ 75-80 เซนติเมตร นำมาทำความสะอาดขั้นต้นโดยกำจัดดินออก ด้วยการล้างผ่านน้ำไหลนาน 10 นาที ตัดราก และฐานออก จากนั้นลอกกาบใบออกให้เหลือต้นสูง ประมาณ 15 เซนติเมตร แล้วนำมาล้างน้ำที่มีผงซักฟอกอีกครั้งเพื่อขจัดกล้วยออกด้วยนาน 10 นาที แล้วตัดแต่งให้เหลือขนาดสูง 4 เซนติเมตร แล้วนำไปใส่ภาชนะที่มีฝาปิด และเข้าสู่กระบวนการฟอกฆ่าเชื้อในตู้ลามินาร์ นำขึ้นส่วนหน่อฟอกด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 70 % 30 วินาทีแล้วตามด้วย HgCl_2 0.1% นาน 10 นาที แล้วจึงลอกกาบออก 2-3 กาบตัดให้ได้ขนาด 2 เซนติเมตร โดยผ่าตามแนวยาว ออกเป็น 4 ส่วนเท่า ๆ กัน จากนั้นจึงเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ 0.250 มิลลิกรัมต่อลิตร

หลังจากเพาะเลี้ยงนาน 2 สัปดาห์ นำขึ้นส่วนที่รอดชีวิตที่ไม่ปนเปื้อนย้ายเพาะเลี้ยงในระบบ TIB ภาชนะ 700 มิลลิลิตร ใช้อาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม TDZ 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยให้อาหาร 6 ครั้งต่อวัน นานครั้งละ 5 นาที ภายในระยะเวลา 1 เดือน

ระยะเพิ่มปริมาณต้น

ในระหว่างการเพิ่มปริมาณของต้นกล้วยควรขยายพันธุ์ด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์ที่มีภาชนะขนาดภาชนะ 700 มิลลิลิตร นำต้นจาก stock สภาพปลอดเชื้ออายุประมาณ 1 เดือน ผ่าออกเป็น 4 ส่วนตามยาว โดยตัดผ่านปลายยอดต้นกล้วย แล้วนำไปเพาะเลี้ยงในระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราว ภาชนะ 700 มิลลิลิตร ที่มีอาหารสูตร MS ที่มี TDZ 0.125 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตรอาหาร 300 มิลลิลิตร โดยมีการให้อาหาร 6 ครั้งต่อวันนานครั้งละ 5 นาทีเพาะเลี้ยงนาน 6 สัปดาห์ สามารถเพิ่มปริมาณต้นได้ดี 5 เท่าต่อขึ้นส่วน

ระยะยืดยาว และชักนำให้ออกราก

ในส่วนการเพาะเลี้ยงให้ต้นยอดเกิดการยืดยาวและออกรากของต้นนั้นนำต้นในระยะเพิ่มปริมาณมาเพาะเลี้ยงในระบบไปโอรีแอคเตอร์ขนาดภาชนะ 700 มิลลิเมตร หรือ ขนาด (20 ลิตร) ในอาหารที่มี NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้ออกรากภายใน 4 สัปดาห์สามารถนำต้นออกปลูกในเรือนโรงได้



บรรณานุกรม

- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2558. รายงานผลการดำเนินงานศูนย์บริการร่วม กรมส่งเสริมการเกษตร. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.servicelink.doae.go.th/webpage/data_result/result%2057-58/summary%20%20SK%2012%20_2558%20.pdf. (16 กันยายน 2559).
- กัลยาณี สุกวิทย์, ภาสันต์ ศารทูลุฑ, พินิจ กรินท์ธัญญกิจ, พิมพ์นิภา เพ็งช่วง, เรืองศักดิ์ กมขุนทด และ ขวัญหทัย ทนงจิตร. 2558. อัตราการเจริญเติบโตของกล้วยน้ำว้า 8 พันธุ์จากต้นเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 46(3) (พิเศษ), 213-216.
- จุลภาค คูนวงศ์, กวิศร์ วานิชกุล และ กัลยาณี อรรถฉัตร. 2553. การเติบโตและเพิ่มปริมาณต้นของกล้วยหอมพันธุ์ Grand Nain โดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วารสารวิชาการเกษตร, 8(2), 2-9.
- นพมณี โทบุญญานนท์. 2545. การขยายพันธุ์พืชโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. เชียงใหม่: iBeam Press studio.
- นพมณี โทบุญญานนท์, ปวีณา นวมเจริญ, วิภาดา ทองทักษิณ, รังสิมา อัมพวัน, สุปิ่น ไม้ดัดจันทร์, ทิพย์สุดา ปุณณิ และ พรศักดิ์ บุญมณี. 2548. การพัฒนาระบบการผลิตต้นปทุมมาต้นทุ่นต่ำด้วยการใช้ไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- นพมณี โทบุญญานนท์, ทิพวัลย์ สุกมลันนท์, ธัญญะ เตชะศีลพิทักษ์, ธราธร ทิรฐิทธิ, เรณู เอี่ยมธนาภรณ์, ลิขิต มณีสันธุ์, กิตติคุณ ชูลิกาวิทย์, วารีย์ ไชยเทพ, ทิพย์สุดา ตั้งตระกูล และ ศรัณย์ อารยะรังสฤษฎ์. 2551. การพัฒนาการผลิตปทุมมาเพื่อเข้าสู่อุตสาหกรรมส่งออก: รายงานฉบับสมบูรณ์. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- นพมณี โทบุญญานนท์, มัทยา อุ่นใจ และ สาวิตรี ใจกันทะ. 2552. ระบบการผลิตต้นปทุมมากระถางปลอดเชื้อด้วยไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแฝด. วิทยาศาสตร์เกษตร, 40(3) (พิเศษ), 149.
- นพมณี โทบุญญานนท์, พูนพัฒน์ พูนน้อย, จาตุพงศ์ วาฤทธิ, ปิยะนุช เนียมทรัพย์, นลิน วงศ์ขัตติยะศรีกาญจนา คล้ายเรือง, เอกชัย บุรณะไทย, อัปสร เปลี่ยนสินไชย และสัจจพร จันทะวงษ์. 2553. ระบบการผลิตต้นพันธุ์อ้อยปลอดโรคด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราว: รายงานฉบับสมบูรณ์. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

- นพเมธี โทบุญญานนท์, พูนพัฒน์ พูนน้อย, ปิยะนุช เนียมทรัพย์, นลิน วงศ์ขัตติยะ ศรีกาญจนา, คล้ายเรือง รังสิมา, อัมพวัน เอกชัย, บุรณะไทย และ ศรีเมฆ ชาวโพพาง. 2555. ระบบการผลิตพันธุ์อ้อยปลอดโรคด้วยระบบไบโอรีแอคเตอร์จุ่มชั่วคราวขนาดอุตสาหกรรม (ปีที่ 2): รายงานฉบับสมบูรณ์. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- นิพิง พินิจผล และ พีระศักดิ์ ฉายประสาท. 2551. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยน้ำว้ามะลิอ่อน. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 39(3), 116-119.
- เบญจมาศ ศิลาชัย. กล้วย. 2558. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ราอีมา วาเมตติชา และ สะมะแอ ตือราแม. 2554. การเพิ่มจำนวนกล้วยหินโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์, 3(3), 47-59.
- รังสฤษฏ์ กาวิตะ. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช หลักการและเทคนิค. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2558. ข้อมูลพื้นฐานเศรษฐกิจการเกษตร. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.oae.go.th/downloadadd/download_journal/commmodity56.pdf. (16 ตุลาคม 2559).
- สรเสรีญ วันจันทร์. 2553. การขยายพันธุ์กล้วยน้ำว้าโดยวิธีการผ่าหน่อ. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.aopdh02.doae.go.th/bananatest.pdf>. (20 กันยายน 2559).
- สวนแม่ละออทำยาง. 2558. 'ไซประโยชน์ 'กล้วยหอมทอง'. สหกรณ์ฯ ทำยาง สบช่องลุยตลาด. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.thairath.co.th/content/536720>. (16 ตุลาคม 2559).
- อรุณี ม่วงแก้วงาม. 2557. การขยายพันธุ์กล้วยหิน (*Musa sapientum* Lin.) ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอด. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 1(3), 24-27.
- Ahmed, S., Sharma, A., Singh, A. K., Wali, V. K. & Kumari, P. 2014. In vitro multiplication of banana (*Musa* sp.) cv. Grand Naine. *African Journal of Biotechnology*, 13(27), 2696-2703.
- Al-Amin, M. D, Karim, M. R., Rhman, S. & Mamun, A. 2009. In vitro micropropagation banana. *Bangladesh Journal of Agricultural Research*, 34(4), 645-659.
- Alvard, D., Cote, F. & Teisson, C. 1993. Comparison of methods of liquid medium culture for banana micropropagation: Effects of temporary immersion of explants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 32, 55-60.

- Bhosale, U. P. S., Dubhashi, V., Mali, N. S. & Rathod, H. P. 2011. In vitro shoot multiplication in different species of banana. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 1, 23-27.
- Debergh, P. C. & Maene, L. J. 1981. A Scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. *Scientia Horticulturae*, 14, 335-345.
- Firoozabady, E. & Gutterson, N. 2003. Cost-effective in vitro propagation methods for pineapple. *Plant Cell Reports*, 21(9), 844-850.
- Goswami, N. K. & Handique, P. J. 2013. In vitro sterilization protocol for micropropagation of *Musa* (AAA group) 'Amritsagar' *Musa* (AAB group) 'Malbhog' and *Musa* (AAB group) 'Chenichampa' banana. *Indian Journal of Applied Research*, 3(6), 50-54.
- Govindaraju, S., Saravanan, J., Jayanthi, B., Nancy, D. & Indra A., 2012, In vitro propagation of Banana (*Musa* sp - Rasthali variety) from sword suckers for its commercial production. *Research in Plant Biology*, 2(5), 1-6.
- Guo, B., Bilal, H. A., Amir, Z., Xu, L. L. & Wei, Y. H. 2011. Thidiazuron: A multi-dimensional plant growth regulator. *African Journal of Biotechnology*, 10(45), 8984-9000.
- Helliot, B., Swennen, R., Poumay, Y., Frison, E., Lepoivre, P. & Panis, B. 2003. Ultrastructural changes associated with cryopreservation of banana (*Musa* spp.) highly proliferating meristems. *Plant Cell Reports*, 21, 690-698.
- Hui, A. V., Arvind, B. & Chan, K. 2012. Micropropagation of *Musa acuminata* x *Musa balbisiana* cv. Pisang awak (AAB genome) and three other cultivars. *Pakistan Journal of Botany*, 44(2), 777-780.
- Jafari, N., Rofina, Y. O. & Norzulaani, K. 2011. Effect of benzylaminopurine (BAP) pulsing on in vitro shoot multiplication of *Musa acuminata* (banana) cv. Berangan. *African Journal of Biotechnology*, 10(13), 2446-2450.
- Jain, A. & Bhadauria, S. 2008. Pursue-the effective bactericide and fungicide. *Coalition, Electronic Newsletter*, 16, 15-17.
- Jiménez, E., Perez, N., Feria, M. D., Barb, R., Capote, A. M. A., Quiala, E. & Perez, J. C. 1999. Improved production of potato microtubers using a temporary immersion system. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 59, 19-23.

- Makara, A. M., Rubaihayo, P. R. & Magambo, M. J. S. 2010. Carry-over effect of thidiazuron on banana in vitro proliferation at different culture cycles and light incubation conditions. *African Journal of Biotechnology*, 9(21), 3079-3085.
- Mudiyansele, Y. & Herath, M. 2016. Effects of different hormonal concentrations and culture medium on multiplication and rooting of stage II banana (*Musa cavendishii*). *Notulae Scientia Biologicae*, 8(1), 69-72.
- Murashige, T. & Skoog, F. 1962. A revised medium for growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Plant Physiology*, 15, 437-497.
- Murthy, B. N. S., Murch, S. J & Saxena, P. K. 1998. Thidiazuron: a potent regulator of in vitro plant morphogenesis. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 34, 267-275.
- Ngomuo, M., Emerald M. & Patrick N. 2013. The Effects of auxins and cytokinin on growth and development of (*Musa* sp.) var. "Yangambi" explants in tissue culture. *American Journal of Plant Sciences*, 4, 2174-2180.
- Nguyen, Q. T. & Kozai, T. 2001. Growth of in vitro banana (*Musa* spp.) shoots under photomixotrophic and photoautotrophic conditions. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 37, 824-829.
- Opik, H & Rolfe, S. 2005. *The Physiology of flowering plants*. 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press.
- Paulos, M. M., Khandagale, V. G & Nadkarni, H. B. 2013. Effect of IAA and IBA on In vitro rooting of banana (*Musa paradisiaca*) cv. Grand Naine. *International Journal of Science and Research*, 4(5), 959-962.
- Roels, S., Escalona, M., Cejas, I., Noceda, C., Rodriguez, R., Canal, M. J., Sandoval, J. & Debergh, P. 2005. Optimization of plantain (*Musa* AAB) micropropagation by temporary immersion system. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 82, 57-66.
- Sahijram, S., Jayar, S. & Bollama, K. T. 2003. Analyzing somaclonal variation in micropropagated banana (*Musa* spp.). *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 39(359), 551-555.

- Shirani, S., Mahdavi, F., & Maziah, M. 2009. Morphological abnormality among regenerated shoots of banana and plantain (*Musa* spp.) after in vitro multiplication with TDZ and BAP from excised shoot-tips. *African Journal of Biotechnology*, 8(21), 5755-5761.
- Silayoi, B. & Babpraserth, C. 1983. **Banana genetic resources exploration in Thailand**. Report Submitted to IBPGR, Kasetsart University, Bangkok.
- Simmonds, N. W. & Shepherd, K. 1955. The taxonomy and origin of the cultivated banana. *Journal of the Linnean Society of London, Botany*, 55, 302-312.
- Thomas, J. E., Lockhart, B. E. L. & Iskra-Caruana, M. L. 2000. Banana mild mosaic virus. pp. 275-279. In Ensete, D. R. Jones (Ed.). **Diseases of banana, Abaca and Ensete**. Wallingford, UK. : CAB International.
- Titov, S., Salil, K. B., Ajoy, M., Sadrul, M. D. A. & Sarder, N. U. 2006. Control of phenolic compound secretion and effect of growth regulators for organ formation from *Musa* spp. cv. Kanthali floral bud explants. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 2(3), 97-104.
- Uma, S., Lakshmi, M. S., Saraswathi, S., Akbar, A. & Mustaffa, M. M. 2010. Embryo rescue and plant regeneration in banana (*Musa* spp). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 105, 105-111.
- Victor, J. M. R., Murch, S. J., Krishnaraj, S., Saxena, P. K. 1999. Somatic embryogenesis and organogenesis in peanut: The role of thidiazuron and N-6-benzylaminopurine in the induction of plant morphogenesis. *Plant Growth Regulation*, 28(1), 9-15.
- Waman, A. A., Bohra, P. & Sathyanarayana, B. N. 2014. Not all sugars are sweet for banana multiplication: In vitro multiplication rooting and acclimatization of banana as influenced by carbon source-concentration interactions. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 50(5), 552-560.
- Wilken, D., Gonzalez, E. J., Gerth, A., Gomez-Kosky, R., Schumann, A. & Claus, D. 2014. Effect of immersion systems, lighting, and TIS designs on biomass increase in micropropagating banana (*Musa* spp. cv. 'Grandenaine' AAA). *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 50, 582-589.





ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล	นางสาว สารีศา ดวงบาล
เกิดเมื่อ	19 ธันวาคม 2534
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2558 ปริญญาโท คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ พ.ศ. 2553 ปริญญาตรี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ พ.ศ. 2540-2547 มัธยมศึกษา โรงเรียนสันทรายวิทยาคม เชียงใหม่
ประวัติการทำงาน	พ.ศ. 2557-2560 ผู้ช่วยนักวิจัย งานวิจัย เรื่อง “Stabilization of high quality rooting system of some ornamental crops for exporting” (Phase 3) ณ ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
ผลงานวิจัย	- นำเสนอผลงานวิจัย ประเภทบรรยาย เรื่อง ผลของการผ่าชิ้นส่วนตั้งต้น และความเข้มข้นของ TDZ ต่อการขยายพันธุ์กล้วยหอมทองในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวแบบขวดแผลัดเปรียบเทียบกับระบบอาหารแข็งในงานประชุมวิชาการระดับนานาชาติ “วิทยาศาสตร์วิจัย” ครั้งที่ 8 ณ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา เมื่อวันที่ 31 พฤษภาคม 2559 - นำเสนอผลงานวิจัย ประเภทโปสเตอร์ เรื่อง การศึกษาชนิดของสารเคมีฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสมต่อการกำจัดเชื้อที่พื้นผิว ในระยะการชักนำให้เกิดต้นกล้วยน้ำว้าในสภาพปลอดเชื้อ ในงานการประชุมวิชาการระดับชาติ งานเกษตรแฟร์ นนทบุรีธานี ครั้งที่ 4 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติสกลนคร เมื่อวันที่ 10 พฤศจิกายน 2559 - ผลงานวิจัยตีพิมพ์ เรื่อง ผลของการผ่าชิ้นส่วนตั้งต้น ความเข้มข้นของ TDZ และจำนวนรอบการเพาะเลี้ยง ต่อการขยายพันธุ์กล้วยหอมทองในระบบไบโอรีแอคเตอร์จมชั่วคราวในวารสารวารสาร Thai Journal of Science and Technology (Sarisa Daungbal, Paweena Poomsuthaphol and Nopmanee Topoonyanont. 2017 Effects of Explants Division by Cutting, Concentrations of TDZ and Number of Sub-culture Cycles on Propagation of ‘Kluai Hom Thong’

Banana in a Temporary Immersion Bbioreactor System. Thai
Journal of Science and Technology, 6(1), 89-99.

E-mail sarisa.duangbal@gmail.com

