

## รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

1. แผนงานวิจัย : การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตกล้วย
2. โครงการวิจัย : การปรับปรุงพันธุ์กล้วย Breeding on Banana  
กิจกรรม : การปรับปรุงพันธุ์กล้วยน้ำว้าต้านทานโรคตายพราย  
กิจกรรมย่อย (ถ้ามี) : ระบุชื่อกิจกรรมย่อยตามแบบ ว1-ก ที่ผ่านการอนุมัติ
3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การคัดเลือกกล้วยน้ำว้าสายพันธุ์ต้านทานต่อโรคตายพรายที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC)  
ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Selection of Kluai Nam Wa resistant breeding lines against Panama disease causing by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC)

### 4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง : นายอภิรักษ์ สมฤทธิ์ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผู้ร่วมงาน : นายยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

นางสาวธารทิพย์ ภาสบุตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

นางเพ็ญจันทร์ สุทธานุกุล ศูนย์วิจัยพืชสวนสุโขทัย

นางสุภาพร สาขาติ สถาบันวิจัยพืชสวน

5. บทคัดย่อ : การคัดเลือกกล้วยน้ำว้าสายพันธุ์ต้านทานต่อโรคตายพรายที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC) ได้ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2559 – กันยายน 2562 ที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช และห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สถาบันวิจัยพืชสวน โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกกล้วยน้ำว้าสายพันธุ์ต้านทานต่อโรคตายพราย (*Fusarium wilt*) ที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* ในระดับเนื้อเยื่อเจริญบนอาหารสังเคราะห์ ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อทดสอบและประเมินความคงทนของความต้านทานของสายพันธุ์กล้วยน้ำว้าต่อการเกิดโรคตายพรายของกล้วยน้ำว้าในแปลงปลูก และ เพื่อหาสายต้นกล้วยน้ำว้าที่ต้านทานโรคตายพรายและมีลักษณะทางการเกษตรที่เหมาะสม ผลการทดลองพบว่า การเลี้ยงเนื้อเยื่อของกล้วยน้ำว้าบนอาหารสังเคราะห์ เพื่อเพิ่มเซลล์เนื้อเยื่อเจริญ (multiple bud clumps) ให้มีปริมาณมากพอที่จะนำไปทดสอบการเจริญบนอาหาร MS ที่ผสมสาร fusaric acid ไม่พบความแตกต่างระหว่างกล้วยน้ำว้ามะลิอ่อน และสท.4 โดยขึ้นส่วน

กลุ่มตาในอาหาร MS ที่เติม Fusaric acid 0.2 mM มีลักษณะเป็นสีเขียว เหมือนชิ้นส่วนที่มีลักษณะปกติ จึงนำไปเลี้ยงขยายให้เจริญเติบโตต่อไปได้ การขยายกลุ่มตา หลังจากเลี้ยงกลุ่มตาในอาหารที่เติม Fusaric acid ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 90 วัน และย้ายลงในอาหาร MS ที่เติม BA 2 ppm และน้ำมะพร้าว 15% เพื่อให้กลุ่มตาเจริญ จากการทดลอง พบว่าหลังจากทำการเลี้ยงกลุ่มตาในอาหารที่เติม Fusaric acid ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 90 วัน ชิ้นส่วนกลุ่มตาของกล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง และสท 4 ไม่พบความแตกต่างกัน ซึ่งมีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน โดยชิ้นส่วนกลุ่มตาในอาหาร MS ที่ไม่เติม Fusaric acid (Control) มีลักษณะปกติ ตลอด 90 วัน และมีขนาดใหญ่ขึ้น ชิ้นส่วนกลุ่มตาในอาหาร MS ที่เติม Fusaric acid 0.2 mM พบว่าบางชิ้นส่วนกลุ่มตามีลักษณะเป็นสีเขียว และบางชิ้นส่วนมีสีดำ โดยชิ้นส่วนกลุ่มตาในอาหาร MS ที่เติม Fusaric acid 0.2 mM มีอัตราการรอดตายสูงที่สุด คือ มะลิอ่องมีอัตราการรอดของกลุ่มตา 10% และ สท 4 23% ในขณะที่ชิ้นส่วนกลุ่มตาในอาหาร MS ที่เติม Fusaric acid ความเข้มข้น 0.4-2.0 mM มีลักษณะเป็นสีขาวและสีดำ จึงมีแนวโน้มที่จะตายเกือบทั้งหมด เมื่อเปลี่ยนอาหารของชิ้นส่วนกลุ่มตาทั้งหมด ที่รอดและไม่รอดลงอาหาร MS ที่เติม BA 2 ppm และน้ำมะพร้าว 15% พบว่า ชิ้นส่วนที่ตายยังไม่สามารถพัฒนาใดๆ ได้ จึงทำการเปลี่ยนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 ppm และน้ำมะพร้าว 15% ซ้ำครั้งที่ 3 เฉพาะชิ้นส่วนที่รอดเท่านั้น หลังการเปลี่ยนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 ppm และน้ำมะพร้าว 15% แล้ว 2 ครั้ง พบว่า ชิ้นส่วนพืชเริ่มมีลักษณะกลายจากกลุ่มตา เป็นต้นอ่อนมากขึ้น การเปลี่ยนอาหารกลุ่มตาที่เติม Fusaric acid 0.2 ที่รอดตาย ลงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 ppm และน้ำมะพร้าว 15% ซ้ำครั้งที่ 6 ทำให้เนื้อเยื่อที่คัดเลือกได้ เพิ่มจำนวนตุ่มยอด และ พัฒนาเจริญทางใบและรากที่สมบูรณ์พร้อมจะนำออกไปเลี้ยงอนุบาลให้เป็นต้นกล้าต่อไป ได้ต้นกล้วย สท 4 ได้ทำการชักนำให้เกิดรากงอก และ จึงได้ส่งให้กับทาง ศวส.สุโขทัย จำนวน 140 ต้น และสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จำนวน 70 ต้น การทดสอบความต้านทานของสายพันธุ์กล้วยต่อการเกิดโรคตายพรายของกล้วยน้ำว้าในระดับโรงเรือน (ปลูกเชื้อรา FOC กับต้นอ่อนกล้วยอายุ 2 เดือน เมื่อตรวจสอบและบันทึกลักษณะอาการภายนอกที่เกิดกับใบและลำต้นเทียม หลังการปลูกเชื้อ 3 เดือน พบว่า ต้นกล้วยส่วนใหญ่ แสดงอาการเหี่ยวเป็นสีเหลือง จนในที่สุดแห้งเป็นสีน้ำตาล ส่วนยอดยังคงหลายใบยังคงมีสีเขียว กาบใบด้านนอกหักพับ การตรวจสอบระดับอาการภายในหรือเนื้อเยื่อภายในเหง้าเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ที่เกิดขึ้นกับต้นกล้วย หลังจากปลูกเชื้อ ยังไม่พบอาการของโรคภายในลำต้น หรือเนื้อเยื่อภายในเหง้าหรือรอบๆ ไม่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล จากอาการที่พบในระยะหลังปลูกเชื้อ 3 เดือน ยังไม่มีความชัดเจน ต้องตรวจสอบต่อไปในระยะ 6 เดือน และ 9 เดือน หลังปลูกเชื้อ ต้นอ่อนกล้วยน้ำว้า สท 4 หรือ พันธุ์สุโขทัย 4 ที่ทนทานต่อ fusaric acid นั้น ทางห้องปฏิบัติการได้ผลิตให้กับ ศวส.สุโขทัย ได้นำทดสอบความต้านทานโรคตายพรายของกล้วยน้ำว้า ในระดับแปลงปลูกต่อไป

**6. คำนำ :** กล้วยเป็นพืชอาหารของโลกที่มีปลูกอยู่มากกว่า 135 ประเทศทั้งในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อน ประเทศไทยมีพื้นที่ทางการเกษตร ประมาณ 149.26 ล้านไร่ เป็นพื้นที่สวนไม้ผลไม้ยืนต้น 34.91 ล้านไร่ คิดเป็น 23.4 เปอร์เซนต์ (สศก. 2555) ในปี 2556 มีพื้นที่ปลูกกล้วยประมาณ 475,455 ไร่ โดยเป็นพื้นที่ปลูกกล้วยน้ำว้ามากที่สุด 364,455 ไร่ ผลผลิต 773,732 ตัน กล้วยน้ำว้าเป็นกล้วยที่สามารถใช้ประโยชน์

ได้หลากหลายทั้งบริโภคเป็นผลไม้ ใช้เป็นส่วนประกอบอาหารคาว หรือของหวาน หรือแปรรูปเป็นอาหารว่าง ขนมขบเคี้ยวต่าง ๆ ได้มากมาย เนื่องจากโรคตายพรายเป็นโรคที่มักเกิดกับกล้วยน้ำว้าเมื่อเป็นแล้วส่งผลให้ไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ หรือได้ผลผลิตที่มีคุณภาพต่ำ พื้นที่ที่เคยพบการระบาดมักได้รับคำแนะนำให้เปลี่ยนชนิดพืชปลูก หรือปลูกกล้วยชนิดอื่นที่ไม่อ่อนแอต่อโรคตายพราย เช่น กล้วยหักมุก กล้วยไข่ เป็นต้น ซึ่งการป้องกันกำจัดโรคนี้ทำได้ไม่ถนัด ต้องลงทุนสูงเมื่อเปรียบเทียบกับราคาผลผลิตที่เกษตรกรจะขายได้ มักไม่คุ้มทุน การปรับปรุงพันธุ์ให้กล้วยน้ำว้าต้านทาน/ทนทานต่อโรคตายพรายจะเป็นหนทางหนึ่งในการช่วยให้เกษตรกร สามารถปลูกกล้วยน้ำว้าต่อไปได้ การปลูกกล้วยโดยใช้หน่อธรรมชาติ เมื่อนำไปปลูกจะได้ผลผลิตไม่สม่ำเสมอ อาจเนื่องจากหน่อที่ใช้ปลูกมีขนาดและอายุที่แตกต่างกัน ส่งผลให้การจัดการผลผลิตไม่มีประสิทธิภาพเท่าที่ควร นอกจากนี้ยังอาจพบปัญหาจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคตายพราย ซึ่งเป็นโรคสำคัญของกล้วยน้ำว้า ที่ติดไปกับหน่อพันธุ์ ก่อให้เกิดความเสียหายต่อพื้นที่ปลูก การใช้ต้นพันธุ์จากวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถแก้ปัญหาดังกล่าวได้ รวมถึงส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตและผลผลิตสูงกว่าการปลูกด้วยหน่อพันธุ์ (ทัศนีย์, 2544)

โรคตายพราย เกิดจากเชื้อรา *F. oxysporum* schlect. f. sp. *cubense* (E. F. Smith) Snyder & Hansens เข้าสู่พืชทางรากและแพร่กระจายสู่ท่อลำเลียงน้ำ ทำให้เกิดอาการเนื้อเยื่อตายเป็นสีน้ำตาลในท่อลำเลียงของลำต้นเทียมของกล้วย และลุกลามขึ้นสู่ก้านใบ โคนใบแก่ด้านบนนอกมีสีซีดเหลือง และผืนใบเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลโดยเริ่มจากขอบใบเข้าสู่กลางใบและใบหักพับภายใน 1-2 สัปดาห์ และในที่สุดลำต้นเทียมจะยืนต้นตายหรือล้มตายลงไป เมื่อผ่าลำต้นเทียมหรือกาบใบที่อยู่ใกล้ระดับผิวดินตามยาว จะพบกลุ่มท่อลำเลียงที่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เหลือง หรือแดง (ณรงค์) 2555) Fusaric acid เป็นสารพิษที่เชื้อราสกุล *Fusarium* หลายชนิด (species) สร้างขึ้นมาในปริมาณมาก เพื่อทำลายเนื้อเยื่อพืชและทำให้พืชแสดงอาการเหี่ยว (Wilt) เมื่อเชื้อราใช้สารพิษนี้เข้าทำลายเซลล์ของพืช เพื่อเจริญลูก้าเข้าสู่เนื้อเยื่อด้านในของพืช หากมีเซลล์ของพืชที่ต้านทานต่อสารพิษนี้ ก็สามารถสกัดกั้นการลุกลามและแพร่ขยายของเชื้อรา ทำให้แสดงลักษณะความทนทาน หรืออาการที่แสดงออกมาน้อยกว่าปกติ การคัดเลือกเซลล์กลายพันธุ์ (mutants) ที่ทนทานต่อสารพิษ fusaric acid ให้ห้องปฏิบัติการ มีความเป็นไปได้สูงที่จะทำให้ได้พืชที่ทนทานต่อโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อราสกุล *Fusarium* การปลูกกล้วยโดยใช้หน่อธรรมชาติ เมื่อนำไปปลูกจะได้ผลผลิตไม่สม่ำเสมอ อาจเนื่องจากหน่อที่ใช้ปลูกมีขนาดและอายุที่แตกต่างกัน ส่งผลให้การจัดการผลผลิตไม่มีประสิทธิภาพเท่าที่ควร นอกจากนี้ยังอาจพบปัญหาจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* สาเหตุโรคตายพราย ซึ่งเป็นโรคสำคัญของกล้วยน้ำว้า ที่ติดไปกับหน่อพันธุ์ ก่อให้เกิดความเสียหายต่อพื้นที่ปลูก การใช้ต้นพันธุ์จากวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถแก้ปัญหาดังกล่าวได้ รวมถึงส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตและผลผลิตสูงกว่าการปลูกด้วยหน่อพันธุ์ (ทัศนีย์, 2544) นรารัตน์ (2547) ศึกษาการขยายพันธุ์และเก็บรักษาต้นกล้วยหินในสภาพปลอดเชื้อ รายงานว่า เมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนลงในอาหารสูตร MS ที่มี TDZ จะเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นกลุ่มตายอดเล็กๆ ที่ไม่ยืดยาว แตกต่างกับเลี้ยงในสูตรอาหารที่มี BA จะให้ยอดและต้นที่สมบูรณ์ Sin-Wan lee (2005) ศึกษาการใช้ Thidiazuron ในการขยายพันธุ์กล้วยเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ รายงานว่า ผลของ TDZ ในการชักนำให้เกิด adventitious bud พบว่า ความเข้มข้นของ TDZ ที่เหมาะสม คือ 0.2 mg/l กับกล้วยหอมพันธุ์ ‘Pei Chiao’

และ Latundan สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยหอม Cavendish จากหน่ออ่อน ขั้นแรกจะใช้ BA ชักนำให้เกิดต้น เพิ่มปริมาณต้นโดยตัดแบ่งและเปลี่ยนใส่อาหารที่มี BA 2 ครั้ง หลังจากนั้นจึงจะเปลี่ยนมาเลี้ยงในอาหารที่มี Dropp 0.1 mg/l หรือ PP333 (PBZ) 0.5 mg/l เพื่อให้เกิดกลุ่มของตายอด และเมื่อได้ปริมาณที่ต้องการแล้ว ให้ย้ายกลุ่มตายอดดังกล่าวเลี้ยงลงอาหารที่มี BA 1-2 ครั้งเพื่อให้ตายอดกลับมายืดยาว ก่อนที่จะเข้าสู่ขั้นตอนการชักนำให้ต้นอ่อนมีรากต่อไป นอกจากนี้ วราภรณ์ (มบป) กล่าวถึงบทบาทของ Thidiazuron ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อว่า Thidiazuron เป็นสารสังเคราะห์ที่ออกฤทธิ์ต่อการเจริญเติบโตของพืชโดยออกฤทธิ์คล้ายไซโตไคนิน และมีผลต่อการเจริญและการพัฒนาการต่างๆ ของพืชในความเข้มข้นต่ำ เมื่อเทียบกับไซโตไคนินตัวอื่นๆ Thidiazuron สามารถชักนำให้เกิดได้ทั้งยอดจำนวนมาก ตาดอก แคลลัส และโซมาติกเอ็มบริโอ ขึ้นอยู่กับความเข้มข้น ขึ้นส่วนพืชและชนิดของพืช การออกฤทธิ์ของ Thidiazuron เกี่ยวข้องกับการเพิ่มระดับของออกซินและไซโตไคนินภายในเซลล์พืชให้สูงขึ้น การใช้ Thidiazuron ที่มีประสิทธิภาพควรใช้ในระดับความเข้มข้นต่ำ ถ้าสูงเกินไป จะทำให้ความแข็งแรงของยอด %การเกิดราก และพัฒนาการที่เป็นปกติของเอ็มบริโอลดลง ผลของ Thidiazuron ต่อการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก กับพืชอื่นๆ นอกจากกล้วย มีรายงานว่าสามารถชักนำให้เกิดยอดได้ในจำนวนที่มากกว่า BA ที่ความเข้มข้นเท่ากันในพืชหลายชนิด โดยเฉพาะพืชใบเลี้ยงคู่ ได้แก่ กระเทียม ช้างกระ ยิบโซฟิลลา กล้วยไม้รองเท้านารีและหวายบางชนิด วราภรณ์ (มบป) สำหรับ Paclobutrazol(PBZ) เป็นสารชะลอการเจริญเติบโตของพืช ยับยั้งการสร้างและการทำงานของฮอร์โมนจิบเบอเรลลินในพืช จึงมีผลลดการยืดตัวของเซลล์ทำให้ปล้องสั้น ใบหนา เขียวเข้ม กระตุ้นการออกดอกของพืชบางชนิดและมีคุณสมบัติอื่นๆ ได้แก่ ทำให้พืชทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (พีรเดช ทองอำไพ อ้างอิงจาก [reg.ksu.ac.th/teacher/myweb/.../สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช.html](http://reg.ksu.ac.th/teacher/myweb/.../สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช.html)) และมีรายงานว่าเมื่อใช้ PP333 ในอาหารเหลวสามารถเพิ่มจำนวนตา/ยอดและลดความยาวใบได้ และทำให้การผลิตหัวของแกลดิโอลัสดีขึ้น และในฟีโลเดนดรอน การใช้ ancymidol และ PP333 ชักนำการเกิดกลุ่มตา/ยอดได้ในอาหารเหลวและในการเลี้ยงแบบ TIB (Sin-Wan lee, 2005)

จากเอกสารประกอบการอบรมการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและการคัดเลือกความแปรปรวนทางพันธุกรรม (somaclonal variation selection) ในการปรับปรุงพันธุ์กล้วยของไต้หวัน (ไฟล์ PDF) จะเห็นได้ว่า การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยมีความก้าวหน้าไปมากจนถึงปัจจุบันนี้ เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยเป็นระดับอุตสาหกรรม ได้แก่ การผลิตต้นพันธุ์ดีกล้วยพันธุ์ต่างๆ การใช้ระบบ TIS กับการขยายพันธุ์กล้วย นอกจากการใช้ประโยชน์เพื่อการขยายพันธุ์ ยังมีการนำประโยชน์ของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ ซึ่งในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สามารถคัดเลือกสายพันธุ์พืชเพื่อการผลิตพืชพันธุ์ต้านทาน (resistant plant) สามารถที่จะชักนำให้เกิดความต้านทานขึ้นในต้นพืช โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีเงื่อนไขต่างๆ เช่น การสร้างพันธุ์ต้านทานต่อสารพิษของโรค ต้านทานต่อแมลง หรือต้านทานต่อยากำจัดวัชพืช เป็นต้น การเลือก/เตรียมชิ้นส่วนเริ่มต้น ได้แก่ adventitious bud callus หรือเนื้อเยื่ออื่นๆ เป็นต้น สำหรับการนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้พืชพันธุ์ต้านทานทางก็มีความสำคัญให้เป้าหมายดังกล่าวดำเนินการไปได้ด้วยดี มีรายงานการใช้ Thidiazuron (TDZ) หรือใช้ TDZ ร่วมกับ Paclobutrazol(PBZ) ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยหินและกล้วยหอม ทำให้เกิด adventitious bud ขนาดเล็กจำนวนมาก (นรารัตน์, 2547; Sin-

Wan lee) จึงมีแนวคิดในการศึกษาและปรับใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต 2 ตัวดังกล่าว ในการเพิ่มปริมาณ adventitious bud ด้วยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยน้ำว้า เพื่อนำไปสู่การทดลองที่ 2 การปรับปรุงพันธุ์กล้วยน้ำว้าให้ต้านทานต่อโรคตายพรายร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อไป

## 7. วิธีดำเนินการ

1. การคัดเลือกเนื้อเยื่อกล้วยน้ำว้าที่ต้านทานต่อสาร Fusaric acid ที่สร้างโดยเชื้อรา *F. oxysporum* f. *sp. cubense* (FOC) บนอาหาร MS ผสมสาร Fusaric acid ดำเนินงาน ดังนี้

1.1 การเลี้ยงเนื้อเยื่อของกล้วยน้ำว้าบนอาหารสังเคราะห์ เพื่อเพิ่มเซลล์เนื้อเยื่อเจริญ (multiple bud clumps) ให้มีปริมาณมากพอที่จะนำไปทดสอบการเจริญบนอาหาร MS ที่ผสมสาร fusaric acid มีวิธีการดังนี้

นำหน่ออ่อนของกล้วยน้ำว้าสายพันธุ์ที่ประเมินลักษณะภายนอกแล้วว่าเป็นสายพันธุ์ทนทาน และเป็นสายพันธุ์อ่อนแอ จากแหล่งปลูกต่าง ๆ ของประเทศ คือ สท 4 และมะลิช่อง ทำความสะอาดด้วยน้ำสะอาด ใช้มีดตัดใบทิ้งและเอาส่วนรอบนอกออกให้หมด เหลือแต่ส่วนในที่มีหัว (corm) และส่วนยอด มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 ซม. นำส่วนที่ได้ฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอโรกซ์ เข้มข้น 15% และ 10% นาน 20 และ 15 นาที ตามลำดับ นำเข้าตู้ย่ำเนื้อเยื่อ ล้างด้วยน้ำกลั่นฟอกฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ตัดส่วนที่สัมผัสกับคลอโรกซ์ออกให้หมด ลอกกาบใบออกจนเหลือปลายยอด ชิ้นส่วนจะมีขนาด ประมาณ 1.5 ลบ.ซม. ตัดแบ่งตรงกลางออกเป็น 4 ส่วนเท่าๆ กัน นำชิ้นส่วนมาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้นของ 0.2 mg/l ย้ายขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไปไว้ในชั้นวางขวดในห้องเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีอุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส ความเข้มแสงประมาณ 2000 ลักซ์ นาน 16 ชั่วโมงต่อวัน หลังจากเพาะเลี้ยงประมาณ 3-4 สัปดาห์ จะเริ่มเกิดกลุ่มตา (multiple bud) ตัดแบ่งกลุ่มตา และนำไปเลี้ยงบนอาหารใหม่สูตรเดิม เพื่อเพิ่มปริมาณ adventitious bud ในแต่ละครั้งเก็บข้อมูลการพัฒนาของชิ้นส่วน ลักษณะการเกิดกลุ่มตา และระยะเวลาที่เกิดกลุ่มตาเพื่อนำไปใช้ในขั้นตอนต่อไป

1.1.1 การทดลองครั้งที่ 1 มีวิธีการดังนี้

1. เตรียมอาหาร MS ที่เติม Fusaric acid ที่ความเข้มข้นต่างๆ ตามกรรมวิธี ดังนี้ (ทดลองครั้งที่ 1)

MS ที่ไม่เติม Fusaric acid (Control)

MS+Fusaric acid 0.2 mM

MS+Fusaric acid 0.4 mM

MS+Fusaric acid 0.6 mM

MS+Fusaric acid 0.8 mM

MS+Fusaric acid 1.0 mM

MS+Fusaric acid 1.2 mM

MS+Fusaric acid 1.4 mM

MS+Fusaric acid 1.6 mM

MS+Fusaric acid 1.8 mM

MS+Fusaric acid 2.0 mM

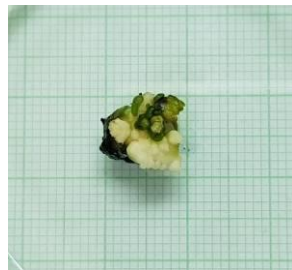
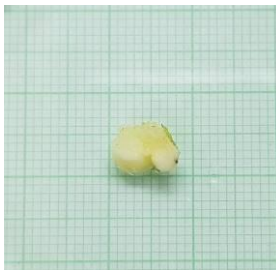


Fusaric acid



MS+Fusaric acid ตามความเข้มข้นต่างๆ

2. ย้ายชิ้นส่วนกลุ่มตา (ขนาดประมาณ 0.5-1 ซม.) ของกล้วยน้ำว้ามะลิอ่อน และสท.4 ลงอาหารทั้ง 11 สูตรๆ ละ 10 ขวด เนื่องจาก Fusaric acid มีปริมาณที่จำกัด จึงได้ทำการปัก 3 ชิ้นส่วนต่อ 1 ขวด



2. บันทึกจำนวนข้อมูลชิ้นส่วนกลุ่มตาที่รอด พร้อมถ่ายรูป เพื่อสังเกตลักษณะของชิ้นส่วน

### 1.2 การขยายกลุ่มตา หรือการทดลองครั้งที่ 2

เนื่องจากการทดลองครั้งแรก กลุ่มตาที่เติม Fusaric acid 0.4 ขึ้นไป ตายทั้งหมด จึงทำการทดลองซ้ำอีกครั้ง โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของ Fusaric acid ตามกรรมวิธี ดังนี้

MS ที่ไม่เติม Fusaric acid (Control)

MS+Fusaric acid 0.05 mM

MS+Fusaric acid 0.10 mM

MS+Fusaric acid 0.15 mM

MS+Fusaric acid 0.20 mM

MS+Fusaric acid 0.25 mM

MS+Fusaric acid 0.30 mM

MS+Fusaric acid 0.35 mM

MS+Fusaric acid 0.40 mM

นอกจากนี้ในการทดลองครั้งแรก ขึ้นส่วนพืชส่วนมากจะตายหลังจากเลี้ยงในอาหารที่เติม Fusaric acid ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 90 วัน และย้ายลงในอาหาร MS ที่เติม BA 2 ppm และน้ำมะพร้าว 15% เพื่อให้กลุ่มตาเจริญไปเป็นต้น พบว่า ขึ้นส่วนกลุ่มตาในอาหาร MS ที่เติม Fusaric acid 0.2 mM มีลักษณะเป็นสีเขียว (เหมือนขึ้นส่วนที่มีลักษณะปกติ) มีอัตราการรอดตายสูงที่สุด โดยมีอัตราการรอดของกลุ่มตา 10% และ สท 4 23% ในขณะที่ขึ้นส่วนกลุ่มตาในอาหาร MS ที่เติม Fusaric acid ความเข้มข้น 0.4-2.0 mM มีลักษณะเป็นสีขาว จึงมีแนวโน้มที่จะตายเกือบทั้งหมด ในปี 2562 ไตรมาสที่ 1 จึงทำการทดลองซ้ำอีกครั้ง โดยปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของ Fusaric acid เป็น 0.05 0.10 0.15 0.20 0.25 0.30 0.35 และ 0.40 mM และเปลี่ยนอาหารให้กับขึ้นส่วนกลุ่มตาที่รอดชีวิตในอาหารสูตร MS ที่เติม 2ppmBA และน้ำมะพร้าว 15% เพื่อให้เกิดต้นและเพิ่มปริมาณ ต่อไป

1.3 การเปลี่ยนอาหารกลุ่มตาที่เติม Fusaric acid 0.2 ที่รอดตาย ลงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 ppm และน้ำมะพร้าว 15% ซ้ำครั้งที่ 6 เพื่อให้กลุ่มตากลับคืนมาเป็นต้น ได้ต้นกล้วย สท 4 ได้ทำการชักนำให้เกิดรากงอก และส่งให้กับทาง ศวส.สุโขทัย และสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ดำเนินการทดลองในขั้นตอนต่อไป

2. การทดสอบความต้านทานของสายพันธุ์กล้วยต่อการเกิดโรคตายพรายของกล้วยน้ำว้าในระดับโรงเรือน (ปลูกเชื้อรา FOC กับต้นอ่อนกล้วยอายุ 1-2 เดือน ที่ได้จากข้อ 1.3) มีขั้นตอนการปฏิบัติดังนี้

### 1. การเตรียมพืชทดสอบ

ต้นกล้วยน้ำว้าที่ใช้ในการทดลองเป็นต้นกล้วยน้ำว้าที่ได้มาเป็นต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในถุงดำ อายุประมาณ 2 เดือน นำต้นอ่อนที่ได้มาปลูกลงในถุงพลาสติกปลูกพืชขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 นิ้วและมีความจุ 10 ลิตร โดยใช้ดินผสมขุยมะพร้าวอบฆ่าเชื้อเป็นวัสดุปลูก ดูแลรดน้ำใส่ปุ๋ยให้ต้นกล้วยเจริญเติบโตได้ 4 เดือนจึงนำไปปลูกเชื้อทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *cubense*

### 2. การเตรียมส่วนขยายพันธุ์ (inoculum) ของเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *cubense*

ใช้เข็มเย็บที่ลนไฟฆ่าเชื้อแล้ว ตัดปลายเส้นใยเชื้อ *F. oxysporum* f. sp. *cubense* อายุ 7 วัน ที่เจริญบนอาหาร PDA ใส่ลงในถุงเมล็ดข้าวฟ่าง บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14-20 วัน หลังจากนั้นนำเมล็ดข้าวฟ่างที่มีเชื้อเจริญอยู่มากคลุกเคล้าดินผสมขุยมะพร้าวที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ปลอຍให้เชื้อปรับตัวเจริญและเพิ่มจำนวนในดินประมาณ 1 สัปดาห์ จึงนำดินที่คลุกเชื้อมาผสมลงในดินที่ปลูกต้นกล้วยน้ำว้า

### 3. การปลูกเชื้อ

นำต้นกล้วยในข้อ 1 ที่เจริญตั้งตัวได้แล้ว มาใช้ทดสอบการก่อให้เกิดโรคของเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* โดยใช้พลั่วขนาดเล็กตักดินที่คลุกเชื้อไว้แล้ว ใส่ลงในหลุม ปริมาณ 1 พลั่วเต็มผสมในดินปลูกกล้วย ทำแบบเดียวกันนี้กับต้นกล้วยทุกต้น แต่ละสายพันธุ์กล้วยน้ำว้าที่คัดเลือกได้ นำมาทดสอบกับเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* จำนวน 5 ซ้ำ ๆ ละ 4 ต้น ส่วนต้นที่ไม่ใส่เชื้อ หรือต้นควบคุมการทดลอง (control) ใช้ดินผสมเมล็ดข้าวฟ่างที่ไม่มีเชื้อผสมลงในดินปลูกกล้วย จัดวิธีการ

ทดลองแบบ RCB (randomized complete block) โดยจัดวางต้นกล้วยที่ปลูกเชื้อสายพันธุ์แต่ละซ้ำให้อยู่ในบริเวณหรือกลุ่มเดียวกัน ภายในแต่ละกลุ่มวางต้นที่ปลูกเชื้อคละกันไป รดน้ำต้นกล้วยทุก ๆ สัปดาห์ และใส่ปุ๋ยให้ต้นกล้วยทั้งหมดเจริญได้ตามปกติ

#### 4. การตรวจสอบการเกิดโรค

หลังปลูกเชื้อลงในต้นกล้วย 4 สัปดาห์ จึงตรวจสอบและบันทึกระดับอาการภายนอกของโรคซึ่งมีใบเหลืองเหี่ยว ทุก 2 สัปดาห์ ตามเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงที่เกิดขึ้น เมื่อถึงสัปดาห์สุดท้ายหลังการปลูกเชื้อครบ 5 เดือน ซึ่งต้นกล้วยมีอายุ 7 เดือน จึงตรวจสอบอาการภายนอกที่เกิดขึ้นเป็นครั้งสุดท้ายแล้วใช้มีดผ่าต้นกล้วยตามยาวตั้งแต่ยอดถึงเหง้า เพื่อตรวจสอบระดับความรุนแรงของอาการภายในของโรคที่เกิดกับเหง้าซึ่งทำให้เนื้อเยื่อเหง้าเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ความรุนแรงของเชื้อในการก่อให้เกิดโรคแบ่งเป็นระดับเปอร์เซ็นต์ได้

ตรวจสอบและบันทึกลักษณะอาการภายนอกที่เกิดกับใบและลำต้นเทียม หลังการปลูกเชื้อ 1 ถึง 7 เดือน และอาการภายในที่เกิดขึ้นกับต้นกล้วยหลังจากปลูกเชื้อ 7 เดือน บันทึกระดับความรุนแรงของโรคโดยอาศัยระดับการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลของเนื้อเยื่อภายในเหง้า 8 ระดับ ตามวิธีการของ Moore *et al.* (1993) ดังนี้

##### 1. ลักษณะอาการภายนอก

ตรวจสอบระดับความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อกับต้นกล้วยที่ทดสอบโรคโดยวัดเป็นเปอร์เซ็นต์จำนวนใบเหลืองเปรียบเทียบกับจำนวนใบทั้งหมดของต้นกล้วย

อาการภายนอก (external symptoms) มี 5 ระดับ คือ

- ระดับ 1: ใบไม่เปลี่ยนเป็นสีเหลือง
- ระดับ 2: ใบล่างเปลี่ยนเป็นสีเหลือง
- ระดับ 3: ใบล่างทุกใบเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและใบอ่อนบางใบมีสีซีด
- ระดับ 4: ใบทุกใบมีสีเหลือง
- ระดับ 5: ต้นพืชตาย

##### 2. ลักษณะอาการภายใน

ตรวจสอบระดับความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อกับกล้วยที่ทดสอบโรคโดยวัดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดเนื้อเยื่อเป็นสีน้ำตาลเปรียบเทียบกับบริเวณเนื้อเยื่อเหง้าทั้งหมด

- ระดับที่ 1: เนื้อเยื่อภายในเหง้าหรือรอบๆ ไม่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล
- ระดับที่ 2: เนื้อเยื่อภายในเหง้าไม่แสดงอาการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล  
แต่เปลี่ยนสีที่บริเวณเนื้อเยื่อเชื่อมต่อกันของรากและเหง้า
- ระดับที่ 3: เนื้อเยื่อภายในเหง้าเปลี่ยนสีเล็กน้อย จนถึง 5 % ของพื้นที่ทั้งหมดภายในเหง้า
- ระดับที่ 4: เนื้อเยื่อภายในเหง้าเปลี่ยนสี 6 – 20 % ของพื้นที่ทั้งหมดภายในเหง้า
- ระดับที่ 5: เนื้อเยื่อภายในเหง้าเปลี่ยนสี 21 – 50 % ของพื้นที่ทั้งหมดภายในเหง้า
- ระดับที่ 6: เนื้อเยื่อภายในเหง้าเปลี่ยนสีมากกว่า 50 % ของพื้นที่ทั้งหมดภายในเหง้า

ระดับที่ 7: เนื้อเยื่อส่วนภายในเหง้าทั้งหมดเปลี่ยนสี (100 %)

ระดับที่ 8: ต้นพืชตาย

นำผลการตรวจสอบที่ได้มาวิเคราะห์ผล เพื่อเปรียบเทียบระดับการเกิดโรคของกล้วยน้ำว้าในแต่ละสายพันธุ์ หรือแต่ละต้นที่คัดเลือกได้ ด้วยวิธีการทางสถิติ

เมื่อพบว่าต้นกล้วยน้ำว้าของสายพันธุ์ที่ไม่แสดงอาการของโรคให้นำเนื้อเยื่อเยื่อใยไปขยายเนื้อเยื่อในอาหาร MS อีกครั้ง เพื่อขยายยอดหน่อ จนเนื้อเยื่อที่คัดเลือกได้ เพิ่มจำนวนตุ่มยอด และ พัฒนาเจริญทางใบและรากที่สมบูรณ์พร้อมจะนำออกไปเลี้ยงอนุบาลให้เป็นต้นกล้าต่อไป

**เวลาและสถานที่**

เวลา : ตุลาคม 2559 – กันยายน 2562 ระยะเวลา 3 ปี

สถานที่ : ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช  
และห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช สถาบันวิจัยพืชสวน

## 8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การคัดเลือกเนื้อเยื่อกล้วยน้ำว้าที่ต้านทานต่อสาร Fusaric acid ที่สร้างโดยเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. cubense (FOC) บนอาหาร MS ผสมสาร Fusaric acid

1.1 การเลี้ยงเนื้อเยื่อของกล้วยน้ำว้าบนอาหารสังเคราะห์ เพื่อเพิ่มเซลล์เนื้อเยื่อเจริญ (multiple bud clumps) ให้มีปริมาณมากพอที่จะนำไปทดสอบการเจริญบนอาหาร MS ที่ผสมสาร fusaric acid หลังจากย้ายชิ้นส่วนกลุ่มตาอาหาร MS ที่เติม Fusaric acid ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า

1. ไม่พบความแตกต่างระหว่างกล้วยน้ำว้ามะลิอ่อน และสท.4 ผลการทดลองมีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน

2. ชิ้นส่วนกลุ่มตาในอาหาร MS ที่ไม่เติม Fusaric acid (Control) มีลักษณะปกติ ตลอด 21 วัน และมีขนาดใหญ่ขึ้น

3. ในอาหาร MS ที่ทุกความเข้มข้นของ Fusaric acid ชิ้นส่วนกลุ่มตาตายเพิ่มขึ้น จากเริ่มต้นจนถึง 21 วัน

4. ชิ้นส่วนกลุ่มตาในอาหาร MS ที่เติม Fusaric acid ความเข้มข้น 0.4-2.0 mM มีลักษณะเป็นสีขาว จึงมีแนวโน้มที่จะตายเกือบทั้งหมด

5. ในขณะที่ชิ้นส่วนกลุ่มตาในอาหาร MS ที่เติม Fusaric acid 0.2 mM มีลักษณะเป็นสีเขียว (เหมือนชิ้นส่วนที่มีลักษณะปกติ) ซึ่งน่าจะเจริญเติบโตต่อไปได้

หลังจากเลี้ยงกลุ่มตาในอาหารที่เติม Fusaric acid ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 90 วัน และย้ายลงในอาหาร MS ที่เติม BA 2 ppm และน้ำมะพร้าว 15% เพื่อให้กลุ่มตาเจริญไปเป็นต้น พบว่าชิ้นส่วนกลุ่มตาในอาหาร MS ที่เติม Fusaric acid 0.2 mM มีลักษณะเป็นสีเขียว (เหมือนชิ้นส่วนที่มีลักษณะปกติ) มีอัตราการรอดตายสูงที่สุด โดยมะลิอ่อนมีอัตราการรอดของกลุ่มตา 10% และ สท 4 23% (ตารางที่ 1) ในขณะที่ชิ้นส่วนกลุ่มตาในอาหาร MS ที่เติม Fusaric acid ความเข้มข้น 0.4-2.0 mM มีลักษณะเป็นสีขาว จึงมีแนวโน้มที่จะตายเกือบทั้งหมด ในปี 2562 ไตรมาสที่ 1 จึงทำการทดลองซ้ำอีกครั้ง โดยปรับเปลี่ยนความ

เข้มข้นของ Fusaric acid เป็น 0.05 0.10 0.15 0.20 0.25 0.30 0.35 และ 0.40 mM และเปลี่ยนอาหารให้กับชิ้นส่วนกลุ่มตาที่รอดชีวิตในอาหารสูตร MS ที่เติม 2ppmBA และน้ำมะพร้าว 15% เพื่อให้เกิดต้นและเพิ่มปริมาณต่อไป

1.2 การขยายกลุ่มตา หลังจากเลี้ยงกลุ่มตาในอาหารที่เติม Fusaric acid ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 90 วัน และย้ายลงในอาหาร MS ที่เติม BA 2 ppm และน้ำมะพร้าว 15% เพื่อให้กลุ่มตาเจริญไป

จากการทดลอง พบว่าหลังจากทำการเลี้ยงกลุ่มตาในอาหารที่เติม Fusaric acid ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 90 วัน ชิ้นส่วนกลุ่มตาของกล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง และสท 4 ไม่พบความแตกต่างกัน ซึ่งมีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน โดยชิ้นส่วนกลุ่มตาในอาหาร MS ที่ไม่เติม Fusaric acid (Control) มีลักษณะปกติตลอด 90 วัน และมีขนาดใหญ่ขึ้น ชิ้นส่วนกลุ่มตาในอาหาร MS ที่เติม Fusaric acid 0.2 mM พบว่าบางชิ้นส่วนกลุ่มตามีลักษณะเป็นสีเขียว (เหมือนชิ้นส่วนที่มีลักษณะปกติ) และบางชิ้นส่วนมีสีดำ โดยชิ้นส่วนกลุ่มตาในอาหาร MS ที่เติม Fusaric acid 0.2 mM มีอัตราการรอดตายสูงที่สุด คือ มะลิอ่องมีอัตราการรอดของกลุ่มตา 10% และสท 4 23% ในขณะที่ชิ้นส่วนกลุ่มตาในอาหาร MS ที่เติม Fusaric acid ความเข้มข้น 0.4-2.0 mM มีลักษณะเป็นสีขาวและสีดำ จึงมีแนวโน้มที่จะตายเกือบทั้งหมด (ดังตารางที่ 1) อย่างไรก็ตามได้ทำการเปลี่ยนอาหารของชิ้นส่วนกลุ่มตาทั้งหมด (รอดและไม่รอด) ลงอาหาร MS ที่เติม BA 2 ppm และน้ำมะพร้าว 15% โดยชิ้นส่วนที่รอด จะสังเกตการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนกลุ่มตา เพื่อพัฒนาไปเป็นต้นต่อไป สำหรับชิ้นส่วนที่ตายไป คาดว่าชิ้นส่วนกลุ่มตาอาจจะกระตุ้นการแตกตัวของชิ้นส่วนกลุ่มตาใหม่ได้

หลังจากได้ทำการย้ายกลุ่มตาทั้งหมดลงในอาหาร MS ที่เติม BA 2 ppm และน้ำมะพร้าว 15% ครั้งแรกเป็นเวลา 1 เดือนแล้ว พบว่า ชิ้นส่วนที่ตายยังไม่สามารถพัฒนาใดๆได้ จึงทำการทดลองซ้ำด้วยอาหารสูตรเดิมเป็นครั้งที่ 2 และมีการทดลองเพิ่มเติมโดยการนำชิ้นส่วนที่ตาย ไปย้ายลงในอาหารสูตร JPN และ NDM อย่างละ 1 ขวด ในทุกๆความเข้มข้น (ซึ่งทั้ง 2 สูตรนี้ใช้ได้ผลในการกระตุ้นให้เกิดกลุ่มตาใหม่ในกล้วยไม้) อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองคือไม่มีการฟื้นคืนของชิ้นส่วนเลย ชิ้นส่วนตายเหมือนเดิมไม่มีการเปลี่ยนแปลง ในอาหารทั้ง 3 สูตร

ดังนั้นจึงทำการเปลี่ยนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 ppm และน้ำมะพร้าว 15% ซ้ำครั้งที่ 3 เฉพาะชิ้นส่วนที่รอดเท่านั้น หลังการเปลี่ยนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 ppm และน้ำมะพร้าว 15% แล้ว 2 ครั้ง พบว่า ชิ้นส่วนพืชเริ่มมีลักษณะกลายจากกลุ่มตา เป็นต้นอ่อนมากขึ้น (ตารางที่ 2)

1.3 การเปลี่ยนอาหารกลุ่มตาที่เติม Fusaric acid 0.2 ที่รอดตาย ลงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 ppm และน้ำมะพร้าว 15% ซ้ำครั้งที่ 6 เพื่อให้กลุ่มตาลงคืนมาเป็นต้นอ่อน

หลังจากดำเนินการเปลี่ยนอาหารสูตร MS+2BA+CW ซ้ำครั้งที่ 3 พบว่าทั้ง สท.4 และมะลิอ่อง มีการกลายคืนเป็นต้นได้ดี และมีลักษณะสภาพปกติ พบว่ามีต้นกล้วยน้ำว้าของสายพันธุ์ที่ไม่แสดงอาการของโรคให้นำเนื้อเยื่อยอดไปขยายเนื้อเยื่อในอาหาร MS อีกครั้ง เพื่อขยายยอดหน่อ จนเนื้อเยื่อที่คัดเลือกได้ เพิ่มจำนวนต่อยอด และ พัฒนาเจริญทางใบและรากที่สมบูรณ์พร้อมจะนำออกไปเลี้ยงอนุบาลให้เป็นต้นกล้าต่อไป (ตารางที่ 3 และ 4) ได้ต้นกล้วย สท 4 ได้ทำการชักนำให้เกิดรากอก และ จึงได้ส่งให้กับทาง ศวส.สุโขทัย จำนวน 140 ต้น และสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จำนวน 70 ต้น เพื่อศึกษาในขั้นตอนต่อไป

## 2. การทดสอบความต้านทานของสายพันธุ์กล้วยต่อการเกิดโรคตายพรายของกล้วยน้ำว้าในระดับโรงเรือน (ปลูกเชื้อรา FOC กับต้นอ่อนกล้วยอายุ 2 เดือน ที่ได้จากข้อ 1.3)

เมื่อตรวจสอบและบันทึกลักษณะอาการภายนอกที่เกิดกับใบและลำต้นเทียม หลังการปลูกเชื้อ 3 เดือน พบว่า ต้นกล้วยส่วนใหญ่ แสดงอาการเหี่ยวเป็นสีเหลือง จนในที่สุดแห้งเป็นสีน้ำตาล ส่วนยอดยังคงหลายใบยังคงมีสีเขียว กาบใบด้านนอกหักพับ การตรวจสอบระดับอาการภายในหรือเนื้อเยื่อภายในเหง้า เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ที่เกิดขึ้นกับต้นกล้วยหลังจากปลูกเชื้อ ยังไม่พบอาการของโรคภายในลำต้น หรือเนื้อเยื่อภายในเหง้าหรือรอบๆ ไม่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล จากอาการที่พบในระยะหลังปลูกเชื้อ 3 เดือน ยังไม่มีความชัดเจน ต้องตรวจสอบต่อไปในระยะ 6 เดือน และ 9 เดือน หลังปลูกเชื้อ

อย่างไรก็ตาม ต้นอ่อนกล้วยน้ำว้า สท 4 หรือ พันธุ์สุโขทัย 4 ที่ทนทานต่อ fusaric acid นั้น ทางห้องปฏิบัติการได้ผลิตให้กับ ศวร.สุโขทัย ได้นำทดสอบความต้านทานโรคตายพรายของกล้วยน้ำว้า ในระดับแปลงปลูกต่อไป ซึ่งผลที่ได้ ไม่ว่าจะมีความต้านทานหรือไม่ ก็ถือว่าเป็นแนวทางหนึ่งในการพัฒนาผลิตต้นอ่อนกล้วยน้ำว้าที่ต้านทานต่อโรคตายพราย ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC) ของประเทศไทย ต่อไป

## 9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ :

การเลี้ยงเนื้อเยื่อของกล้วยน้ำว้าบนอาหารสังเคราะห์ เพื่อเพิ่มเซลล์เนื้อเยื่อเจริญ (multiple bud clumps) ให้มีปริมาณมากพอที่จะนำไปทดสอบการเจริญบนอาหาร MS ที่ผสมสาร fusaric acid หลังจากย้ายชิ้นส่วนกลุ่มตาอาหาร MS ที่เติม Fusaric acid ที่ความเข้มข้นต่างๆ ไม่พบความแตกต่างระหว่างกล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง และสท.4 ผลการทดลองมีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน สำหรับ ชิ้นส่วนกลุ่มตาในอาหาร MS ที่ไม่เติม Fusaric acid (Control) มีลักษณะปกติ ตลอด 21 วัน และมีขนาดใหญ่ขึ้น ชิ้นส่วนของตาในอาหาร MS ที่ทุกความเข้มข้นของ Fusaric acid ชิ้นส่วนกลุ่มตาดายเพิ่มขึ้น จากเริ่มต้นจนถึง 21 วัน สำหรับ ชิ้นส่วนกลุ่มตาในอาหาร MS ที่เติม Fusaric acid ความเข้มข้น 0.4-2.0 mM มีลักษณะเป็นสีขาว จึงมีแนวโน้มที่จะตายเกือบทั้งหมด ในขณะที่ชิ้นส่วนกลุ่มตาในอาหาร MS ที่เติม Fusaric acid 0.2 mM มีลักษณะเป็นสีเขียว เหมือนชิ้นส่วนที่มีลักษณะปกติ จึงนำไปเลี้ยงขยายให้เจริญเติบโตต่อไปได้

การขยายกลุ่มตา หลังจากเลี้ยงกลุ่มตาในอาหารที่เติม Fusaric acid ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 90 วัน และย้ายลงในอาหาร MS ที่เติม BA 2 ppm และน้ำมะพร้าว 15% เพื่อให้กลุ่มตาเจริญ จากการทดลอง พบว่าหลังจากทำการเลี้ยงกลุ่มตาในอาหารที่เติม Fusaric acid ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 90 วัน ชิ้นส่วนกลุ่มตาของกล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง และสท 4 ไม่พบความแตกต่างกัน ซึ่งมีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน โดยชิ้นส่วนกลุ่มตาในอาหาร MS ที่ไม่เติม Fusaric acid (Control) มีลักษณะปกติ ตลอด 90 วัน และมีขนาดใหญ่ขึ้น ชิ้นส่วนกลุ่มตาในอาหาร MS ที่เติม Fusaric acid 0.2 mM พบว่าบางชิ้นส่วนกลุ่มตามีลักษณะเป็นสีเขียว (เหมือนชิ้นส่วนที่มีลักษณะปกติ) และบางชิ้นส่วนมีสีดำ โดยชิ้นส่วนกลุ่มตาในอาหาร MS ที่เติม Fusaric acid 0.2 mM มีอัตราการรอดตายสูงที่สุด คือ มะลิอ่องมีอัตราการรอดของกลุ่มตา 10% และ สท 4 23% ในขณะที่ชิ้นส่วนกลุ่มตาในอาหาร MS ที่เติม Fusaric acid ความเข้มข้น 0.4-2.0 mM มีลักษณะเป็นสี

ขาวและสีดำ จึงมีแนวโน้มที่จะตายเกือบทั้งหมด อย่างไรก็ตามได้ทำการเปลี่ยนอาหารของชิ้นส่วนกลุ่มตาทั้งหมด ที่รอดและไม่รอดลงอาหาร MS ที่เติม BA 2 ppm และน้ำมะพร้าว 15% โดยชิ้นส่วนที่รอด จะสังเกตการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนกลุ่มตา เพื่อพัฒนาไปเป็นต้นต่อไป สำหรับชิ้นส่วนที่ตายไป คาดว่าชิ้นส่วนกลุ่มตาอาจจะกระตุ้นการแตกตัวของชิ้นส่วนกลุ่มตาใหม่ได้ หลังจากได้ทำการย้ายกลุ่มตาทั้งหมดลงในอาหาร MS ที่เติม BA 2 ppm และน้ำมะพร้าว 15% ครั้งแรกเป็นเวลา 1 เดือนแล้ว พบว่า ชิ้นส่วนที่ตายยังไม่สามารถพัฒนาใดๆได้ จึงทำการทดลองซ้ำด้วยอาหารสูตรเดิมเป็นครั้งที่ 2 และมีการทดลองเพิ่มเติมโดยการนำชิ้นส่วนที่ตาย ไปย้ายลงในอาหารสูตร JPN และ NDM อย่างละ 1 ขวด ในทุกๆความเข้มข้น (ซึ่งทั้ง 2 สูตรนี้ใช้ได้ผลในการกระตุ้นให้เกิดกลุ่มตาใหม่ในกล้วยไม้) อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองคือไม่มีการฟื้นคืนของชิ้นส่วนเลย ชิ้นส่วนตายเหมือนเดิมไม่มีการเปลี่ยนแปลง ในอาหารทั้ง 3 สูตร

ดังนั้นจึงทำการเปลี่ยนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 ppm และน้ำมะพร้าว 15% ซ้ำครั้งที่ 3 เฉพาะชิ้นส่วนที่รอดเท่านั้น หลังการเปลี่ยนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 ppm และน้ำมะพร้าว 15% แล้ว 2 ครั้ง พบว่า ชิ้นส่วนพืชเริ่มมีลักษณะกลายจากกลุ่มตา เป็นต้นอ่อนมากขึ้น

การเปลี่ยนอาหารกลุ่มตาที่เติม Fusaric acid 0.2 ที่รอดตาย ลงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 2 ppm และน้ำมะพร้าว 15% ซ้ำครั้งที่ 6 เพื่อให้กลุ่มตากลับคืนมาเป็นต้นอ่อน พบว่าทั้ง สท.4 และมะลิอ่อน มีการกลายคืนเป็นต้นได้ดี และมีลักษณะสภาพปกติ พบว่ามีต้นกล้วยน้ำว้าของสายพันธุ์ที่ไม่แสดงอาการของโรค ให้นำเนื้อเยื่อยอดไปขยายเนื้อเยื่อในอาหาร MS อีกครั้ง เพื่อขยายยอดหน่อ จนเนื้อเยื่อที่คัดเลือกได้ เพิ่มจำนวนตุ่มยอด และ พัฒนาเจริญทางใบและรากที่สมบูรณ์พร้อมจะนำออกไปเลี้ยงอนุบาลให้เป็นต้นกล้าต่อไป ได้ต้นกล้วย สท 4 ได้ทำการชักนำให้เกิดรากงอก และ จึงได้ส่งให้กับทาง ศวส.สุโขทัย จำนวน 140 ต้น และสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช จำนวน 70 ต้น เพื่อศึกษาในขั้นต่อไป

การทดสอบความต้านทานของสายพันธุ์กล้วยต่อการเกิดโรคตายพรายของกล้วยน้ำว้าในระดับโรงเรือน (ปลูกเชื้อรา FOC กับต้นอ่อนกล้วยอายุ 2 เดือน เมื่อตรวจสอบและบันทึกลักษณะอาการภายนอกที่เกิดกับใบและลำต้นเทียม หลังการปลูกเชื้อ 3 เดือน พบว่า ต้นกล้วยส่วนใหญ่ แสดงอาการเหี่ยวเป็นสีเหลือง จนในที่สุดแห้งเป็นสีน้ำตาล ส่วนยอดยังคงหลายใบยังคงมีสีเขียว กาบใบด้านนอกหักพับ การตรวจสอบระดับอาการภายในหรือเนื้อเยื่อภายในเหง้าเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ที่เกิดขึ้นกับต้นกล้วยหลังจากปลูกเชื้อ ยังไม่พบอาการของโรคภายในลำต้น หรือเนื้อเยื่อภายในเหง้าหรือรอบๆ ไม่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล จากอาการที่พบในระยะหลังปลูกเชื้อ 3 เดือน ยังไม่มีความชัดเจน ต้องตรวจสอบต่อไปในระยะ 6 เดือน และ 9 เดือน หลังปลูกเชื้อ อย่างไรก็ตาม ต้นอ่อนกล้วยน้ำว้า สท 4 หรือ พันธุ์สุโขทัย 4 ที่ทนทานต่อ fusaric acid นั้น ทางห้องปฏิบัติการได้ผลิตให้กับ ศวส.สุโขทัย ได้นำทดสอบความต้านทานโรคตายพรายของกล้วยน้ำว้า ในระดับแปลงปลูกต่อไป ซึ่งผลที่ได้ไม่ว่าจะมีความต้านทานหรือไม่ ก็ถือว่าเป็นแนวทางหนึ่งในการพัฒนาผลิตต้นอ่อนกล้วยน้ำว้าที่ต้านทานต่อโรคตายพราย ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC) ของประเทศไทยต่อไปในอนาคต ส่วนสำหรับข้อมูลผลการทดลองที่เป็นภาพรวมของโครงการทั้งหมดนั้น จะนำเสนอสรุปในผลการดำเนินงานของโครงการการปรับปรุงพันธุ์กล้วย Breeding on Banana ต่อไป

## 10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

นำผลการวิจัยที่ได้ผลอย่างมีประสิทธิภาพ ไปถ่ายทอดให้หน่วยงานของกรมวิชาการเกษตร และกรมส่งเสริมการเกษตร รวมหน่วยการศึกษาต่าง ๆ ที่สนใจ

1. ได้ระดับความเข้มข้นของ TDZ และ PBZ ที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณ adventitious bud ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยน้ำว้า เพื่อนำไปสู่การทดลองที่ 2 การปรับปรุงพันธุ์กล้วยน้ำว้าให้ต้านทานต่อโรคตายพรายร่วมกับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อต่อไป

2. เกษตรกรมีโอกาเลือกใช้พันธุ์กล้วยน้ำว้าที่เหมาะสมกับสภาพพื้นที่ เพื่อลดต้นทุนการผลิตที่เป็นผลมาจากลักษณะของสายพันธุ์

## 11. คำขอบคุณ (ถ้ามี) : -

## 12. เอกสารอ้างอิง

ณรงค์ สิงห์บุระอุดม. 2555. การควบคุมโรคตายพรายของกล้วยน้ำว้า. ภาควิชาโรคพืช, คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

[http://ppath.agr.ku.ac.th/index.php?option=com\\_content&task=view&id=115&Itemid=1](http://ppath.agr.ku.ac.th/index.php?option=com_content&task=view&id=115&Itemid=1)

ทัศนีย์ ศิริวรรณ. 2544. การเจริญเติบโตและผลผลิตกล้วยน้ำว้า “มะลิอ่อน” ที่ปลูกด้วยต้นจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและหน่อ. สำนักงานสถาบันราชภัฏพิบูลสงคราม, พิษณุโลก.

นรรัตน์ พรหมสร. 2547. การขยายพันธุ์และเก็บรักษาต้นกล้วยหิน (*Musa balbisiana* ‘Kluai Hin’) ในสภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

เบญจมาศ ศิลาชัย. 2545. กล้วย. ภาควิชาพืชสวน, คณะเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 357 หน้า.

ปาริชาติ นุกูลการ. ชื่อเอกสาร: ผลของสิ่งก่อกลายพันธุ์ต่อกล้วยหอมทอง ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ. หน่วยงานจัดพิมพ์: ... ปีพิมพ์: 2526. จำนวนหน้า: 72 แผ่น

พีรเดช ทองอำไพ, มปป. อ้างอิงจาก [reg.ksu.ac.th/teacher/myweb/.../สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช.html](http://reg.ksu.ac.th/teacher/myweb/.../สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช.html)  
วรารณณ์ ฉุยฉาย. มปป. บทบาทของไยเดียวชูรอนในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. สาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ อ.เมือง จ.นครสวรรค์.  
(อ้างอิงจาก [www.yru.ac.th/e\\_journal/file/wchouychai/old\\_73.doc](http://www.yru.ac.th/e_journal/file/wchouychai/old_73.doc))

เพ็ญจันทร์ สุธานุกุล. 2549. การอนุรักษ์พันธุ์กรรมกล้วย. ศูนย์วิจัยพืชสวนสุโขทัย. กรมวิชาการเกษตร. 65 หน้า

สถาบันวิจัยพืชสวน. 2552. เรื่องของกล้วย. เอกสารประกอบการสัมมนาวิชาการ เรื่อง การเพิ่มศักยภาพการผลิตและส่งออกกล้วยไทย. สถาบันวิจัยพืชสวน. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ. 17 หน้า

- Mak C., Y.W.Ho, Y.P. Tan and R. Ibrahim. 1995. Novaria- a new banana Mutance induced by gamma Irradiation. Infomusa 4:1.
- Matsumoto, K.,H., Yamaguchi. 1990. Selection of aluminium-tolerant variants from irradiated protocorm-like bodies in banana. Tropical Agriculture 67: 229-232.
- Nagatomi, S; Ujihara, K; Sugimoto, A. and Maeda, H (1996). Selection of mutants resistant to rust disease in sugarcane induced through gamma irradiation on vitro culture. Institute of Radiation Breeding. Technical News No.52. 2 pp.
- Novak,F.J., R. Afza, M. Van Duren, Onae Ms. 1990. Mutation Induction by gamma Irradiation of in vitro cultured shoot-tips of Banana and Plantain (Musa cvs.) Tropical Agriculture 67: 21-28
- Novak,F.J., H. Brunner, R. Afza, R. Morpurgo, R.K. Upadhyay, M. Van Duren, M.Sacchi, J.Sitti Hawa, A. Khatri, G. Kahl, D. Kaemmer J. Ramser and K. Weising. 1993 Improvement of Musa through biotechnology and mutation breeding. Pp.143-158 in Proceedings of the Workshop on Biotechnology Applications for Banana and Plantain Improvement. San Jose. Costarica. INIBAP. Montpellier. France.
- Sin-Wan lee. 2005. Thidiazuron in the Improvement of Banana Micropropagation. Taiwan Banana Research Institute. P.O. Box 18, Chiuju, Pingtung, Taiwan 904, ROC. 9 pages. In Training Standardization of Protocol of Tissue Culture and Somaclonal Variant Selection in Musa Improvement. 20-26 October 2013.

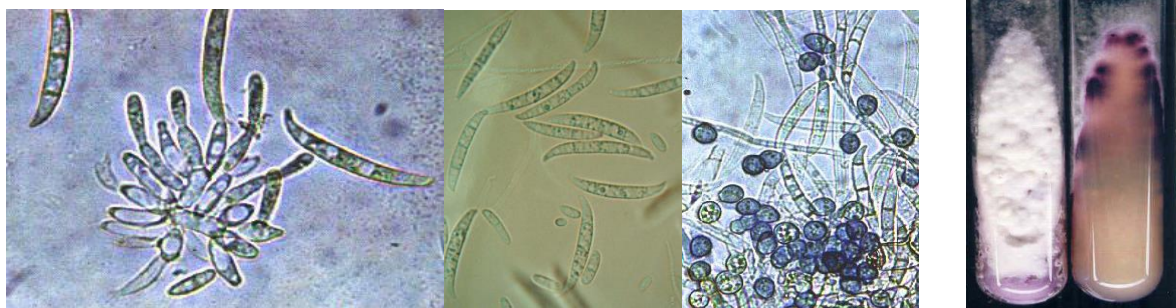
### 13. ภาคผนวก :



ภาพที่ 1 ลักษณะอาการโรคตายพรายของกล้วยน้ำว้าที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (FOC) ในแปลงปลูกกล้วย



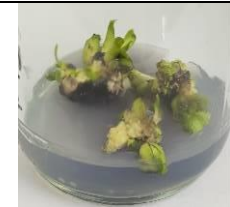
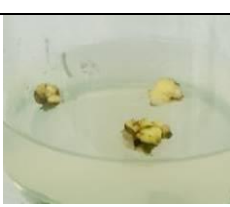
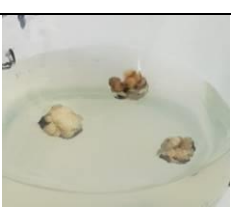
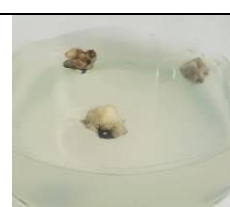
Monophialides สร้าง microconidia เป็นกลุ่มแบบ false heads.

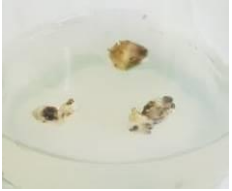
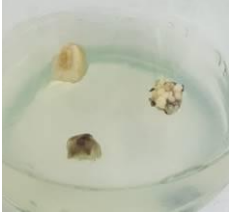


ภาพที่ 2 ลักษณะโครงสร้าง และการเจริญบนอาหารของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (FOC)

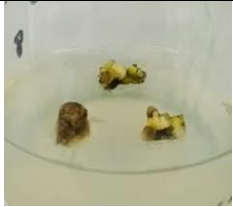


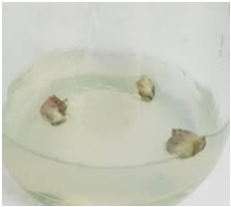
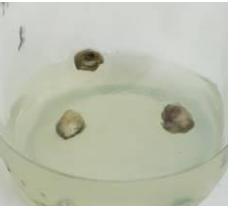
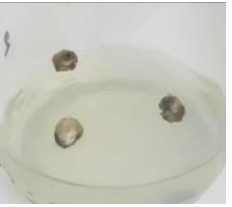
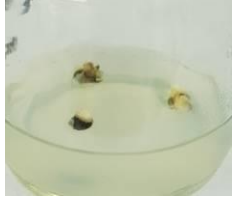
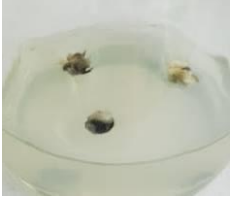
**ตารางที่1** แสดงลักษณะขึ้นส่วนพืชที่เลี้ยงในอาหาร MS ที่เติม Fusaric acid ที่ความเข้มข้นต่างๆ จนกระทั่ง 90 วัน

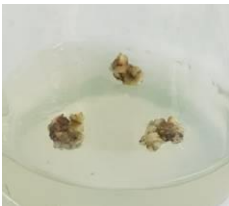
| มะลิอ่อน<br><br>Treatment            | ลักษณะของขึ้นส่วนพืช                                                               |                                                                                     |                                                                                      |                                                                                      |                                                                                      |                                                                                      |
|--------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
|                                      | 7 วัน                                                                              | 14 วัน                                                                              | 21 วัน                                                                               | 28 วัน                                                                               | 60 วัน                                                                               | 90 วัน                                                                               |
| MS ที่ไม่เติม Fusaric acid<br><br>#2 |   |   |   |   |   |   |
| MS+Fusaric acid 0.2 mM<br><br>#5     |   |   |   |   |   |   |
| MS+Fusaric acid 0.4 mM<br><br>#6     |  |  |  |  |  |  |

|                                 |                                                                                     |                                                                                      |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |
|---------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| MS+Fusaric acid 0.6<br>mM<br>#6 |    |    |    |    |    |    |
| MS+Fusaric acid 0.8<br>mM<br>#5 |    |    |    |    |    |    |
| มะลิอ่อน                        | ลักษณะของชิ้นส่วนพืช                                                                |                                                                                      |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |
| Treatment                       | 7 วัน                                                                               | 14 วัน                                                                               | 21 วัน                                                                                | 28 วัน                                                                                | 60 วัน                                                                                | 90 วัน                                                                                |
| MS+Fusaric acid 1.0<br>mM<br>#3 |   |   |   |   |   |   |
| MS+Fusaric acid 1.2<br>mM<br>#1 |  |  |  |  |  |  |

|                                  |                                                                                     |                                                                                      |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |
|----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| MS+Fusaric acid 1.4<br>mM<br>#3  |    |    |    |    |    |    |
| MS+Fusaric acid 1.6<br>mM<br>#2  |    |    |    |    |    |    |
| MS+Fusaric acid 1.8<br>mM<br>#2  |    |    |    |    |    |    |
| มะลิอ่อน                         | ลักษณะของชิ้นส่วนพืช                                                                |                                                                                      |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |
| Treatment                        | 7 วัน                                                                               | 14 วัน                                                                               | 21 วัน                                                                                | 28 วัน                                                                                | 60 วัน                                                                                | 90 วัน                                                                                |
| MS+Fusaric acid 2.0<br>mM<br>#10 |  |  |  |  |  |  |

| สท.4<br><br>Treatment                 | ลักษณะของชิ้นส่วนพืช                                                               |                                                                                     |                                                                                      |                                                                                      |                                                                                      |                                                                                      |
|---------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
|                                       | 7 วัน                                                                              | 14 วัน                                                                              | 21 วัน                                                                               | 28 วัน 15/6                                                                          | 60 วัน                                                                               | 90 วัน                                                                               |
| MS ที่ไม่เติม Fusaric acid<br><br>#10 |   |   |   |   |   |   |
| MS+Fusaric acid 0.2 mM<br><br>#8      |   |   |   |   |   |   |
| MS+Fusaric acid 0.4 mM<br><br>#6      |  |  |  |  |  |  |

|                                   |                                                                                     |                                                                                      |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| MS+Fusaric acid 0.6 mM<br><br>#2  |    |    |    |    |    |    |
| MS+Fusaric acid 0.8 mM<br><br>#8  |    |    |    |    |    |    |
| สท.4                              | ลักษณะของชิ้นส่วนพืช                                                                |                                                                                      |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |
| Treatment                         | 7 วัน                                                                               | 14 วัน                                                                               | 21 วัน                                                                                | 28 วัน                                                                                | 60 วัน                                                                                | 90 วัน                                                                                |
| MS+Fusaric acid 1.0 mM<br><br>#10 |   |   |   |   |   |   |
| MS+Fusaric acid 1.2 mM<br><br>#5  |  |  |  |  |  |  |

|                                   |                                                                                     |                                                                                      |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| MS+Fusaric acid 1.4 mM<br><br>#4  |    |    |    |    |    |    |
| MS+Fusaric acid 1.6 mM<br><br>#4  |    |    |    |    |    |    |
| MS+Fusaric acid 1.8 mM<br><br>#3  |    |    |    |    |    |    |
| สท.4                              | ลักษณะของชิ้นส่วนพืช                                                                |                                                                                      |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |
| Treatment                         | 7 วัน                                                                               | 14 วัน                                                                               | 21 วัน                                                                                | 28 วัน                                                                                | 60 วัน                                                                                | 90 วัน                                                                                |
| MS+Fusaric acid 2.0 mM<br><br>#10 |  |  |  |  |  |  |

**ตารางที่ 2** แสดงจำนวนชิ้นส่วนกลุ่มตาที่รอด ที่ Fusaric acid ความเข้มข้นต่างๆ (จำนวนชิ้นส่วนเริ่มต้น = 30 ชิ้น) (ทดลองครั้งที่ 1)

| มะลิอ่อน                   | จำนวนชิ้นส่วนที่รอด |             |        |             |        |             |        |             |        |             |        |             |
|----------------------------|---------------------|-------------|--------|-------------|--------|-------------|--------|-------------|--------|-------------|--------|-------------|
|                            | 7 วัน               |             | 14 วัน |             | 21 วัน |             | 28 วัน |             | 60 วัน |             | 90 วัน |             |
| Treatment                  | จำนวน               | เปอร์เซ็นต์ | จำนวน  | เปอร์เซ็นต์ | จำนวน  | เปอร์เซ็นต์ | จำนวน  | เปอร์เซ็นต์ | จำนวน  | เปอร์เซ็นต์ | จำนวน  | เปอร์เซ็นต์ |
| MS ที่ไม่เติม Fusaric acid | 28                  | 93%         | 29     | 97%         | 29     | 97%         | 29     | 97%         | 30     | 100%        | 30     | 100%        |
| MS+Fusaric acid 0.2 mM     | 26                  | 87%         | 8      | 27%         | 4      | 13%         | 3      | 10%         | 3      | 10%         | 3      | 10%         |
| MS+Fusaric acid 0.4 mM     | 21                  | 70%         | 2      | 7%          | 1      | 3%          | 1      | 3%          | 0      | 0%          | 0      | 0%          |
| MS+Fusaric acid 0.6 mM     | 17                  | 57%         | 11     | 37%         | 2      | 7%          | 1      | 3%          | 1      | 3%          | 0      | 0%          |
| MS+Fusaric acid 0.8 mM     | 19                  | 63%         | 10     | 33%         | 2      | 7%          | 2      | 7%          | 0      | 0%          | 0      | 0%          |
| MS+Fusaric acid 1.0 mM     | 20                  | 67%         | 15     | 50%         | 4      | 13%         | 1      | 3%          | 1      | 3%          | 0      | 0%          |
| MS+Fusaric acid 1.2 mM     | 22                  | 73%         | 17     | 57%         | 6      | 20%         | 4      | 13%         | 0      | 0%          | 0      | 0%          |
| MS+Fusaric acid 1.4 mM     | 19                  | 63%         | 13     | 43%         | 4      | 13%         | 1      | 3%          | 0      | 0%          | 0      | 0%          |

|                        |    |     |    |     |   |     |   |     |   |    |   |    |
|------------------------|----|-----|----|-----|---|-----|---|-----|---|----|---|----|
| MS+Fusaric acid 1.6 mM | 17 | 57% | 15 | 50% | 2 | 7%  | 1 | 3%  | 0 | 0% | 0 | 0% |
| MS+Fusaric acid 1.8 mM | 19 | 63% | 12 | 40% | 3 | 10% | 3 | 10% | 0 | 0% | 0 | 0% |
| MS+Fusaric acid 2.0 mM | 20 | 67% | 11 | 37% | 0 | 0%  | 0 | 0%  | 0 | 0% | 0 | 0% |

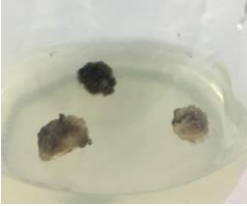
| สท.4                       | จำนวนชิ้นส่วนที่รอด |             |        |             |        |             |        |             |        |             |        |             |
|----------------------------|---------------------|-------------|--------|-------------|--------|-------------|--------|-------------|--------|-------------|--------|-------------|
|                            | 7 วัน               |             | 14 วัน |             | 21 วัน |             | 28 วัน |             | 60 วัน |             | 90 วัน |             |
| Treatment                  | จำนวน               | เปอร์เซ็นต์ | จำนวน  | เปอร์เซ็นต์ | จำนวน  | เปอร์เซ็นต์ | จำนวน  | เปอร์เซ็นต์ | จำนวน  | เปอร์เซ็นต์ | จำนวน  | เปอร์เซ็นต์ |
| MS ที่ไม่เติม Fusaric acid | 30                  | 100%        | 30     | 100%        | 30     | 100%        | 30     | 100%        | 30     | 100%        | 30     | 100%        |
| MS+Fusaric acid 0.2 mM     | 22                  | 73%         | 9      | 30%         | 6      | 20%         | 6      | 20%         | 7      | 23%         | 7      | 23%         |
| MS+Fusaric acid 0.4 mM     | 16                  | 53%         | 2      | 7%          | 0      | 0%          | 0      | 0%          | 0      | 0%          | 0      | 0%          |
| MS+Fusaric acid 0.6 mM     | 25                  | 83%         | 3      | 10%         | 0      | 0%          | 0      | 0%          | 0      | 0%          | 0      | 0%          |
| MS+Fusaric acid 0.8 mM     | 20                  | 67%         | 4      | 13%         | 0      | 0%          | 0      | 0%          | 0      | 0%          | 0      | 0%          |
| MS+Fusaric acid 1.0 mM     | 24                  | 80%         | 4      | 13%         | 0      | 0%          | 0      | 0%          | 0      | 0%          | 0      | 0%          |

|                        |    |     |    |     |   |     |   |     |   |    |   |    |
|------------------------|----|-----|----|-----|---|-----|---|-----|---|----|---|----|
| MS+Fusaric acid 1.2 mM | 16 | 53% | 9  | 30% | 4 | 13% | 4 | 13% | 0 | 0% | 0 | 0% |
| MS+Fusaric acid 1.4 mM | 21 | 70% | 11 | 37% | 2 | 7%  | 0 | 0%  | 0 | 0% | 0 | 0% |
| MS+Fusaric acid 1.6 mM | 22 | 73% | 10 | 33% | 1 | 3%  | 1 | 3%  | 0 | 0% | 0 | 0% |
| MS+Fusaric acid 1.8 mM | 22 | 73% | 11 | 37% | 9 | 30% | 2 | 7%  | 0 | 0% | 0 | 0% |
| MS+Fusaric acid 2.0 mM | 20 | 67% | 16 | 53% | 3 | 10% | 1 | 3%  | 0 | 0% | 0 | 0% |

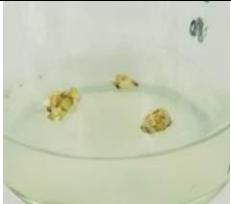
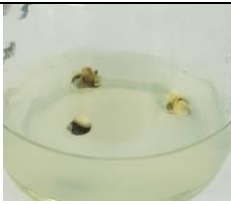
**ตารางที่ 3** แสดงตัวอย่างลักษณะชิ้นส่วนพืชที่ทำการเปลี่ยนลงในอาหาร MS ที่เติม BA 2 ppm และน้ำมะพร้าว 15%

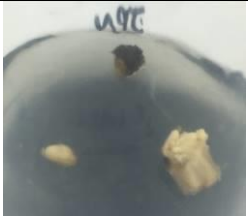
| มะลิอ่อน<br><br>Treatment            | ลักษณะของชิ้นส่วนพืช                                                               |                                                                                      |                                                                                      |                                                                                      |
|--------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
|                                      | Fusaric acid 0 วัน                                                                 | Fusaric acid 90 วัน                                                                  | MS+2BA+CW ครั้งที่ 1                                                                 | MS+2BA+CW ครั้งที่ 2                                                                 |
| MS ที่ไม่เติม Fusaric acid<br><br>#2 |   |   |   |   |
| MS+Fusaric acid 0.2 mM<br><br>#5     |   |   |   |   |
| MS+Fusaric acid 0.4 mM<br><br>#6     |  |  |  |  |

|                                  |                                                                                     |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |
|----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| MS+Fusaric acid 0.6 mM<br><br>#6 |    |    |    |    |
| มะลิอ่อน                         | ลักษณะของชิ้นส่วนพืช                                                                |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |
| Treatment                        | Fusaric acid 0 วัน                                                                  | Fusaric acid 90 วัน                                                                   | MS+2BA+CW ครั้งที่ 1                                                                  | MS+2BA+CW ครั้งที่ 2                                                                  |
| MS+Fusaric acid 0.8 mM<br><br>#5 |    |    |    |    |
| MS+Fusaric acid 1.0 mM<br><br>#3 |   |   |   |   |
| MS+Fusaric acid 1.2 mM<br><br>#1 |  |  |  |  |

|                               |                                                                                     |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |
|-------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| MS+Fusaric acid 1.4 mM<br>#3  |    |    |    |    |
| MS+Fusaric acid 1.6 mM<br>#2  |    |    |    |    |
| มะลิอ่อน                      | ลักษณะของชิ้นส่วนพืช                                                                |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |
| Treatment                     | Fusaric acid 0 วัน                                                                  | Fusaric acid 90 วัน                                                                   | MS+2BA+CW ครั้งที่ 1                                                                  | MS+2BA+CW ครั้งที่ 2                                                                  |
| MS+Fusaric acid 1.8 mM<br>#2  |   |   |   |   |
| MS+Fusaric acid 2.0 mM<br>#10 |  |  |  |  |

| สท.4<br><br>Treatment                 | ลักษณะของชิ้นส่วนพืช                                                                |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |
|---------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
|                                       | Fusaric acid 0 วัน                                                                  | Fusaric acid 90 วัน                                                                   | MS+2BA+CW ครั้งที่ 1                                                                  | MS+2BA+CW ครั้งที่ 2                                                                  |
| MS ที่ไม่เติม Fusaric acid<br><br>#10 |    |    |    |    |
| MS+Fusaric acid 0.2 mM<br><br>#8      |    |    |    |    |
| MS+Fusaric acid 0.4 mM<br><br>#6      |   |   |   |   |
| MS+Fusaric acid 0.6 mM<br><br>#2      |  |  |  |  |

|                               |                                                                                     |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |
|-------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|
| MS+Fusaric acid 0.8 mM<br>#8  |    |    |    |    |
| สท.4                          | ลักษณะของชิ้นส่วนพืช                                                                |                                                                                       |                                                                                       |                                                                                       |
| Treatment                     | Fusaric acid 0 วัน                                                                  | Fusaric acid 90 วัน                                                                   | MS+2BA+CW ครั้งที่ 1                                                                  | MS+2BA+CW ครั้งที่ 2                                                                  |
| MS+Fusaric acid 1.0 mM<br>#10 |    |    |    |    |
| MS+Fusaric acid 1.2 mM<br>#5  |   |   |   |   |
| MS+Fusaric acid 1.4 mM<br>#4  |  |  |  |  |

|                               |                                                                                   |                                                                                     |                                                                                     |                                                                                     |
|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| MS+Fusaric acid 1.6 mM<br>#4  |  |  |  |  |
| MS+Fusaric acid 1.8 mM<br>#3  |  |  |  |  |
| MS+Fusaric acid 2.0 mM<br>#10 |  |  |  |  |

ตารางที่ 4 ภาพเปรียบเทียบระหว่างต้นกล้วยที่เลี้ยงในอาหาร MS+TDZ แล้ว ย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS+2BA+CW

| สท.4                                                                                |  |                                                                                     |  |                                                                                      |  |                                                                                       |  |                                                                                       |  |                                                                                       |  |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--|-------------------------------------------------------------------------------------|--|--------------------------------------------------------------------------------------|--|---------------------------------------------------------------------------------------|--|---------------------------------------------------------------------------------------|--|---------------------------------------------------------------------------------------|--|
| 31/5/2559                                                                           |  | 1/7/2559                                                                            |  | 31/10/59                                                                             |  | 21/12/59                                                                              |  | 3/3/60                                                                                |  | 12/5/60                                                                               |  |
|    |  |    |  |    |  |    |  |    |  |    |  |
|    |  |    |  |    |  |    |  |    |  |    |  |
|   |  |   |  |   |  |   |  |   |  |   |  |
| มะลิอ่อน                                                                            |  |                                                                                     |  |                                                                                      |  |                                                                                       |  |                                                                                       |  |                                                                                       |  |
| 31/5/2559                                                                           |  | 1/7/2559                                                                            |  | 31/10/59                                                                             |  | 21/12/59                                                                              |  | 3/3/60                                                                                |  | 12/5/60                                                                               |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

