การขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี' (*Dendrocalamus sericeus* Munro) โดยผ่านการชักนำให้เกิดคัลลัส

โดย
นางสาวดวงฤทัย ปราสาททอง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2562
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

การขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี' (*Dendrocalamus sericeus* Munro) โดยผ่านการชักนำให้เกิดคัลลัส

โดย
นางสาวดวงฤทัย ปราสาททอง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาชีววิทยา แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร
ปีการศึกษา 2562
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

MICROPROPAGATION OF PAI SANGMON 'NUAN RACHINI' (*DENDROCALAMUS SERICEUS* MUNRO) VIA CALLUS INDUCTION

By

MISS Duangruethai PRASATTHONG

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for Master of Science (BIOLOGY)

Department of BIOLOGY

Graduate School, Silpakorn University

Academic Year 2019

Copyright of Graduate School, Silpakorn University

หัวข้อ	การขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี' (*Dendrocalamus sericeus* Munro) โดยผ่านการชักนำให้เกิดคัลลัส
โดย	ดวงฤทัย ปราสาททอง
สาขาวิชา	ชีววิทยา แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กรกช ชั้นจิรกุล

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.จุไรรัตน์ นันทานิช)

พิจารณาเห็นชอบโดย

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศรัณยพร มากทรัพย์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรกช ชั้นจิรกุล)

.....ผู้ทรงคุณวุฒิภายใน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลนาถ อบสุวรรณ)

.....ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก
(รองศาสตราจารย์ ดร.โชคพิศิษฐ์ เทพสิทธา)

59303201 : ชีววิทยา แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
คำสำคัญ : ไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี', การชักนำให้เกิดคัลลัส, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

นางสาว ดวงฤทัย ปราสาททอง: การขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี' (*Dendrocalamus sericeus* Munro) โดยผ่านการชักนำให้เกิดคัลลัส อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กรกช ชั้นจิรกุล

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการชักนำให้เกิดยอดจากส่วนข้อ การชักนำให้เกิดคัลลัสจากส่วนยอด การชักนำให้เกิดยอดจากคัลลัส และการชักนำให้เกิดรากจากกลุ่มยอด ของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ (*Dendrocalamus sericeus* Munro) การชักนำให้เกิดยอดจากส่วนข้อโดยการนำชิ้นส่วนข้อที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางระหว่าง 0.4-0.8 เซนติเมตร ความยาวประมาณ 4 เซนติเมตร) เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์บนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม 6-benzyl adenine (BA) ในความเข้มข้นที่ต่างกัน พบว่า BA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่เติมอาหารสูตร MS ชักนำให้เกิดจำนวนยอดและความยาวยอดสูงที่สุด (3.9 ยอด และ 3.4 เซนติเมตร) ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ให้จำนวนยอด 3.1 ยอด ที่มีความยาว 2.50 เซนติเมตร สำหรับการชักนำให้เกิดคัลลัส โดยการนำชิ้นส่วนยอดที่ได้จากส่วนข้อมาตัดให้มีความยาว 0.5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรดัดแปลงของ MS ที่มี L-glutamine ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร, L-proline ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ casein hydrolysate ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติม 2,4 dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) ร่วมกับ kinetin (KN) และ 3-indole butylric acid (IBA) หรือ 2,4-D ร่วมกับ BA และ 1-naphthalene acetic acid (NAA) ในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน พบว่าอาหารทุกสูตรที่เติมสารควบคุมการเติบโตชักนำให้เกิดคัลลัสได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และให้ชนิดของคัลลัสที่แตกต่างกัน โดยหลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์ อาหารสูตรดัดแปลงของ MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร, KN ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้คัลลัสชนิด compact ที่มีขนาดใหญ่ที่สุดมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.83 เซนติเมตร จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณคัลลัสโดยการเพาะเลี้ยงกลุ่มคัลลัส (ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-1.0 เซนติเมตร) บนอาหารสูตรดัดแปลงของ MS ที่มี polyvinylpyrrolidone average molecular weight 40,000 (PVP-40) ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติม 2,4-D ร่วมกับ BA ในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าอาหารสูตรดัดแปลงของ MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้กลุ่มคัลลัสที่มีการเพิ่มปริมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ และให้ขนาดของคัลลัสชนิด compact เพิ่มขึ้นมากที่สุด 0.94 เซนติเมตร ส่วนการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัส โดยการนำ

กลุ่มคัลลัสชนิด compact ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ บนอาหารดัดแปลงของสูตร MS ที่มี PVP-40 ความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติม BA เพียงอย่างเดียว, BA ร่วมกับ IBA หรือ KN และ NAA, KN ร่วมกับ NAA หรือ 3-indole acetic acid (IAA), และ KN ร่วมกับ 2,4-D ในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน จากผลการทดลองพบว่ามีการเกิดยอดขนาดเล็กเกิดขึ้นจากคัลลัสที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรดัดแปลงของ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีกลุ่มคัลลัส 50 เปอร์เซ็นต์ที่เกิดยอด และได้ยอด 5.9 ยอดต่อกลุ่มคัลลัส ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ให้ 5.6 ยอดต่อกลุ่มคัลลัส แต่มีกลุ่มคัลลัสเพียง 30 เปอร์เซ็นต์ที่เกิดยอด และยังพบกลุ่มคัลลัส 10-40 เปอร์เซ็นต์ ที่เกิดราก มีจำนวนราก 0.1-3.8 ต่อกลุ่มคัลลัส ในอาหารทุกสูตรที่เติม NAA หรือ IAA นอกจากนี้ยังได้นำคัลลัสชนิด compact เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ บนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA เพียงอย่างเดียวหรือร่วมกับ BA หรือ NAA ร่วมกับ KN สำหรับการชักนำให้เกิดยอด โดยพบจำนวนยอดที่เกิดขึ้นมากที่สุด 26.5 ยอดต่อกลุ่มคัลลัส และมีเปอร์เซ็นต์ของกลุ่มคัลลัสที่เกิดยอด 100 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร การชักนำให้เกิดรากโดยการนำกลุ่มยอด จำนวน 3 ยอดต่อกลุ่ม เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ บนอาหารสูตร MS เติม IBA เพียงอย่างเดียวหรือร่วมกับ KN หรือ NAA เพียงอย่างเดียวหรือร่วมกับ KN ในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน จากนั้นย้ายไปเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเติบโตอีกเป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า NAA ที่ความเข้มข้น 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตรชักนำให้เกิดรากจากกลุ่มยอดได้ 60 และ 40 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนราก 2.0 และ 1.1 ราก มีความยาวราก 1.5 และ 1.0 เซนติเมตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตามยอดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตายในที่สุด

59303201 : Major (BIOLOGY)
Keyword : Callus induction, Micropropagation, Bamboo

MISS DUANGRUETHAI PRASATTHONG : MICROPROPAGATION OF PAI SANGMON 'NUAN RACHINI' (*DENDROCALAMUS SERICEUS* MUNRO) VIA CALLUS INDUCTION THESIS ADVISOR : ASSISTANT PROFESSOR KORAKOT CHANJIRAKUL, Ph.D.

Shoot induction from nodal segments, callus induction from shoot segments and shoot induction from callus were carried out for Sang Mon ‘Nuan Rajinee’ (*Dendrocalamus sericeus* Munro). Surface-sterilized nodal segments (between 0.4-0.8 cm in diameter with about 4 cm long) were cultured for 2 weeks on Murashige and Skoog (MS) supplemented with 6-benzyl adenine (BA) at different concentrations. It was found that 3 mg/l BA added in MS medium induced the highest shoot numbers with shoot length (3.9 shoots and 3.4 cm long), however there was not significantly different from medium added with 4 mg/l BA providing 3.1 shoots with 2.50 cm long. For callus induction, shoots from nodal segments were excised into segments with 0.5 cm long and cultured on MS medium, containing 500 mg/l L-glutamine, 500 mg/l L-proline and 500 mg/l casein hydrolysate, supplemented with 2,4 dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) in combination with kinetin (KN) and 3-indole butylric acid (IBA) or 2,4-D in combination with BA and 1-naphthalene acetic acid (NAA) at different concentrations. All culture media added with plant growth regulators gave 100 percent of induced callus with different callus types. After 16 weeks of culturing, modified MS medium added with 5.0 mg/l 2,4-D, 2.0 mg/l KN and 0.4 mg/l IBA gave the highest yield of compact callus with 0.83 cm in diameter. The obtained callus cluster (about 0.5-1.0 cm in diameter) was proliferated on MS medium containing 250 mg/l polyvinylpyrrolidone average molecular weight 40,000 (PVP-40) supplemented 2,4-D in combination with KN or 2,4-D in combination with BA at different concentrations. After 12 weeks of culturing, modified MS medium supplemented that 3.0 mg/l 2,4-D in combination with 2.0 mg/l KN gave 70% of callus clusters that proliferated with the highest increase in size of compact callus at 0.94 cm. For shoot induction, compact callus cluster, about 1 cm in diameter, was cultured for 12 weeks on MS medium containing 250 mg/l PVP-40 and supplemented with BA alone, BA in combination with IBA or KN and NAA, KN

in combination with NAA or 3-indole acetic acid (IAA), and KN in combination with 2,4-D in different concentrations. The results showed that small shoots developed from callus cultured on modified MS medium supplemented with 1.0 mg/l BA in combination with 0.3 mg/l KN and 0.3 mg/l NAA with 50% of callus clusters forming shoots with 5.9 shoots per callus. However, there was not significantly different from medium supplemented with 2.0 mg/l KN in combination with 1.0 mg/l NAA providing 5.6 shoots per callus but only 30% of callus that regenerated to shoots. In addition, root formation was found from callus clusters 10-40% with 0.1-3.8 roots per callus cluster in all media supplemented with NAA or IAA. Furthermore, compact callus cluster was cultured for 8 weeks on MS medium supplemented with NAA alone or in combination with BA or NAA in combination with KN for shoot induction. The highest number of shoots 26.5 shoots per callus cluster with 100% of callus clusters forming shoots was found on callus cultured on medium supplemented with 0.5 mg/l NAA in combination with 0.5 mg/l KN. For root induction, a 3-shoot clump was cultured for 2 weeks on MS medium supplemented with IBA alone or in combination with KN or NAA alone or in combination with KN in different concentrations, then transferred to medium without plant growth regulator. NAA at the concentration of 2.0 and 3.0 mg/l added in the medium induced 60 and 40% rooted shoots with 2.0 and 1.1 roots, 1.5 and 1.0 cm long. However, shoots turned brown and died eventually.

มหาวิทยาลัยศิลปากร

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณา และความช่วยเหลือจาก รองศาสตราจารย์ ดร.โชคพิศิษฐ์ เทพสิทธา และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กรกช ชั้นจิรกุล ที่ให้คำแนะนำ ความรู้ ตลอดจนกำลังใจ อันเป็นประโยชน์ต่อการทำวิทยานิพนธ์ให้เสร็จสมบูรณ์ รวมทั้งขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศรัณยพร มากทรัพย์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กุลนาถ อบสุวรรณ ที่ได้สละเวลาเป็นประธานและกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ ซึ่งได้ให้คำปรึกษาและคำแนะนำต่างๆ แก่ผู้วิจัย เพื่อให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ คุณประสาน สุขสุทธิ์ และวิสาหกิจชุมชนนวัตกรรมไผ่ บ้านเกาะรัง อำเภอเขาฉกรรจ์ จังหวัดสระแก้ว ที่ได้ให้ความช่วยเหลือ และได้อนุเคราะห์ตัวอย่างพืช เพื่อนำมาใช้ในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณ บิดา มารดา บุคลากรในห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ รวมทั้งเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ ที่คอยให้กำลังใจและคำปรึกษา จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จด้วยดี

ดวงฤทัย ปราสาททอง

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ฉ

กิตติกรรมประกาศ ..... ซ

สารบัญ ..... ฌ

สารบัญตาราง ..... ฏ

สารบัญภาพ ..... ฐ

บทที่ 1 1

บทนำ 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา 3

ขอบเขตการศึกษา 3

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 4

บทที่ 2 5

วรรณกรรมที่เกี่ยงข้อง 5

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนข้อ 5

การเพาะเลี้ยงละอองเรณู 5

การเพาะเลี้ยงเมล็ด 5

การเพาะเลี้ยงดอกช่อเทียม 6

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบ 6

การชักนำให้เกิดคัลลัสในไผ่สกุล *Dendrocalamus* 8

บทที่ 3 10

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการดำเนินการวิจัย 10
1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการค้นคว้า 10
2. วิธีดำเนินการวิจัย 11
1. การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อ 11
2. การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากส่วนของยอด 12
3. การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการขยายกลุ่มคัลลัส 13
4. การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัส 13
5. การศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโต KN, BA และ NAA ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัส 14
6. การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำยอดให้เกิดราก 15
7. การศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโต KN, IBA และ NAA ต่อการชักนำยอดให้เกิดราก 15
บทที่ 4 17
ผลการทดลอง 17
การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโตในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี 17
การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโตในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากส่วนของยอดของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 19
การทดลองที่ 3 การศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโตในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการขยายกลุ่มคัลลัสของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 23
การทดลองที่ 4 การศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโตในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัสของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 26
การทดลองที่ 5 การศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโต KN, BA และ NAA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัสของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 33
การทดลองที่ 7 การศึกษาสารควบคุมการเติบโต IBA และ NAA ที่มีผลต่อการชักนำกลุ่มยอดให้เกิดราก 39

บทที่ 5 44
อภิปรายผลการทดลอง 44
การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อ 44
การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากส่วนของยอดและขยายคัลลัส 45
การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัส 47
การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากจากกลุ่มยอด 49
บทที่ 6 51
สรุปผลการศึกษา 51
การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อ 51
การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากส่วนของยอด 51
การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการขยายกลุ่มคัลลัส 51
การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัส 52
การศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโต KN, BA และ NAA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัสของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ 52
การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำยอดให้เกิดราก 52
ภาคผนวก 53
รายการอ้างอิง 55
ประวัติผู้เขียน 62

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ผลของ BA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ 17

ตารางที่ 2 ผลของ 2,4-D, KN, BA, IBA, NAA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากส่วนยอดของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์ 20

ตารางที่ 3 ผลของสารควบคุมการเติบโต 2,4-D, KN, IBA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการขยายคัลลัสของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ 24

ตารางที่ 4 ผลของสารควบคุมการเติบโต 2,4-D, BA, KN, IBA, NAA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัส เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ 28

ตารางที่ 5 ผลของสารควบคุมการเติบโต BA, KN และ NAA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัส เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ 34

ตารางที่ 6 ผลของสารควบคุมการเติบโต BA, NAA และ KN ในอาหารสูตร MS ต่อการชักนำการชักนำให้เกิดรากจากกลุ่มยอดที่ได้จากส่วนข้อ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ และอาหารเหลวสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเติบโต เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ 40

มหาวิทยาลัยศิลปากร

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ผลของ BA ในอาหารสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อของไผ่ซางหม่นนวลราชินี'เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์..... 18

ภาพที่ 2 ผลของ 2,4-D, KN, IBA และ NAA ในอาหารสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากส่วนยอดของไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี' เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์ 21

ภาพที่ 3 ผลของสารควบคุมการเติบโต 2,4-D, KN, IBA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการขยายคัลลัสของไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี' ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์..... 25

ภาพที่ 4 ผลของสารควบคุมการเติบโต 2,4-D, BA, KN, IBA, NAA ในอาหารสูตร MS ต่อการชักนำการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัสเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ 29

ภาพที่ 5 ผลของสารควบคุมการเติบโต 2,4-D, BA, KN, IBA, NAA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการชักนำการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัสเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ 31

ภาพที่ 6 ยอดที่เกิดจากกลุ่มคัลลัสบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเติบโต BA, KN และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 35

ภาพที่ 7 ยอดที่เกิดจากกลุ่มคัลลัสบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเติบโต BA, KN และNAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์..... 36

ภาพที่ 8 ผลของสารควบคุมการเติบโต IBA และ NAA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อชักนำให้เกิดรากจากกลุ่มยอดจากข้อ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์..... 38

ภาพที่ 9 ผลของสารควบคุมการเติบโต BA, KN และ NAA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดรากจากกลุ่มยอดจากข้อ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ 41

ภาพที่ 10 ลักษณะรากที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงกลุ่มยอดในอาหารเหลวสูตร MS ที่ประกอบด้วย NAA 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2 สัปดาห์ แล้วย้ายลงอาหารเหลวสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเติบโต เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ 43

บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ไผ่ (Bamboo) เป็นพืชเมืองร้อน (tropical) ส่วนใหญ่พบในเขตร้อนทางใต้และตะวันออกเฉียงใต้ของเอเชียจาก อินเดีย ไทย จีน ญี่ปุ่น เกาหลี พบน้อยที่สุดในเขตอบอุ่น (temperates) บางส่วนของทวีปอเมริกาและแถบอเมริกาใต้ เช่น เปอโตริโก้ ชิลี อาเจนตินา และมี 2-3 ชนิดที่พบในออสเตรเลีย ชนิดของไผ่ทั่วโลกมีประมาณ 80-90 สกุล (Genera) 1500 ชนิด (species) (Benton, 2015) สำหรับในประเทศไทยมี 17 สกุล 72 ชนิด และคาดว่ายังมีบางชนิดที่หลงเหลือจากการสำรวจ ไผ่เป็นพืชที่มีประโยชน์ใช้สอยมากมายมหาศาลได้อย่างกว้างขวางทั่วโลก เช่นเป็นอาหาร เป็นวัตถุดิบสำหรับหัตถกรรมและอุตสาหกรรม ใช้ในการก่อสร้าง เป็นที่กำบัง และใช้เป็นยารักษาโรค (Rout & Das, 1994; Woods et al., 1992; สุทัศน์ เดชวิสิทธิ์, 2537) ปัจจุบันพื้นที่การเจริญเติบโตของไผ่ในโลกถูกคุกคามอย่างกว้างขวาง เนื่องจากลักษณะการออกดอกของไผ่ (John & Nadgauda, 1999) และจำนวนประชากรของโลกที่เพิ่มขึ้นอย่างมากทำให้เกิดการบุกรุกทำลายป่า (Rout & Das, 1994) จากสถิติการทำป่าไม้ของประเทศไทยในปี 2535 พบว่าพื้นที่ป่าทั้งหมดประมาณ 148,600 ตารางกิโลเมตร เป็นพื้นที่ป่าไผ่เพียง 8,100 ตารางกิโลเมตรหรือร้อยละ 5.5 ของพื้นที่ป่าทั้งหมด และในปี 2543 พบว่ามีพื้นที่ป่าไผ่เหลืออยู่เพียง 2,609.52 ตารางกิโลเมตร จากพื้นที่ป่าทั้งหมด 129,722.28 ตารางกิโลเมตร หรือมีพื้นที่ป่าไผ่อยู่ประมาณร้อยละ 2.01 ของพื้นที่ป่าทั้งหมด (สุทัศน์ เล้าสกุล, 2545)

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีทรัพยากรไม้ไผ่หลากหลายชนิด แต่การใช้ไผ่อย่างไม่คำนึงถึงคุณค่า ทำให้เกิดปัญหาของพืชพันธุ์ไผ่หลายประการ คือปัญหาในการสูญเสียชนิดพันธุ์และสายพันธุ์เนื่องมาจากการทำลายป่าและการบุกรุกที่ดิน ปัญหาในด้านการศึกษาวิจัยซึ่งมีบุคลากรไม่พอเพียงกับปริมาณงาน และขาดการเชื่อมโยงข่าวสารข้อมูลระหว่างภาครัฐ เอกชนและผู้ประกอบการ ปัญหาการจำแนกสายพันธุ์ซึ่งยังมีความสับสนในการจำแนกพรรณอยู่มาก ปัญหาการออกดอกและการตายขุยโดยไผ่ที่ออกดอกไม่ว่าจะตายหรือไม่ตายจะสูญเสียประสิทธิภาพในการผลิตหน่อในปีถัดไป นอกจากนี้ยังพบปัญหาในการตัดฟันไม้ไผ่ไม่ถูกวิธี ทำให้ผลผลิตของหน่อในปีถัดไปลดน้อยลงและหน่อมีขนาดเล็กลง จากปัญหาดังกล่าวและการนำไผ่ออกมาใช้ประโยชน์มากเกินไปโดยไม่มีการปลูกทดแทน และการจัดการที่ไม่เหมาะสมทำให้ประชากรไผ่ลดลงและไม่เพียงพอต่อความต้องการ (Rout & Das, 1994; สุทัศน์ เล้าสกุล, 2545)

ไผ่จัดอยู่ใน Phylum Spermayophyta, Class Monocotyledons, Order Graminales, Family Poaceae, Subfamily Bambusoideae ไผ่เศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญในปัจจุบัน คือ ไผ่ซางหม่น (*Dendrocalamus sericeus* Munro) (Chaomao, 1990) ไผ่ซางหม่นเป็นไผ่สายพันธุ์พื้นเมืองที่พบมากเฉพาะในพื้นที่ภาคเหนือ แถบจังหวัดเชียงใหม่ แพร่ ลำปาง และลำพูน แต่ด้วยลักษณะพิเศษที่ลำมีขนาดใหญ่ ลำตรง แข็งแรง เนื้อไม้หนา สวยงาม ทำให้ไผ่ซางหม่นกลายเป็นที่ต้องการของตลาด ขายได้ราคาดี นิยมนำมาผลิตเป็นเฟอร์นิเจอร์ไม้ไผ่คุณภาพดี จนเป็นที่ขนานนามว่า เพชรแห่งล้านนา (ศูนย์ข้อมูลการเรียนรู้การเกษตรและวิถีธรรมชาติสำหรับชีวิตสมัยใหม่, 2011) ไผ่ซางหม่นจัดเป็นไผ่ขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ มีลำใหญ่ เมื่อโตเต็มที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5-7 นิ้ว ลำไม้ไผ่เรียวตรง มีความยาว 20-25 เมตร เนื้อไม้หนา 1.5 -3 เซนติเมตร ข้อค่อนข้างถี่ สีของลำสีเขียวมีคราบของแป้งสีขาวหรือวงขาวต่าง ๆ หรือสีขาวหม่น (ธัญพิสิษฐ์ พวงจิกและคณะ, 2016) การขยายพันธุ์ไผ่ซางหม่นนิยมใช้การตอนกิ่งแขนงข้างดีที่สุด รองลงมาคือชำลำแบบแนวนอน สามารถเก็บหน่อได้หลังจากปลูกไปได้ 1 ปี และตัดขายลำได้เมื่ออายุ 4 ปี จากนั้นตัดไม้ได้ทุกปี (ศูนย์ข้อมูลการเรียนรู้การเกษตรและวิถีธรรมชาติสำหรับชีวิตสมัยใหม่, 2011) ขณะนี้ไผ่ซางหม่นเป็นไผ่ที่ได้รับความสนใจและมีต้องการของตลาดมากขึ้น ปัจจุบันการผลิตกล้าไผ่ซางหม่นยังมีน้อย และส่วนใหญ่เกษตรกรที่ปลูกก็มักเป็นการปลูกไผ่ตามบ้านมีเพียงไม่กี่กอ ไม่ได้ทำในเชิงพาณิชย์อย่างจริงจัง ทำให้ไม้ไผ่ซางหม่นขาดตลาด ทั้งที่เป็นไม้ไผ่ที่มีคุณภาพดีกว่าไผ่อื่นๆ

ประเทศไทยมีการนำไผ่มาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวาง เช่น นำหน่อมาประกอบอาหาร ใช้ลำต้นทำวัสดุก่อสร้าง เครื่องจักสาน เครื่องใช้ในครัวเรือน เฟอร์นิเจอร์ ยารักษาโรค และใช้งานทางด้านการเกษตร เช่น ใช้เป็นไม้ค้ำยัน ปลูกเป็นแนวกันลมหรือปลูกเป็นแนวริมน้ำเพื่อป้องกันการพังทลายของดิน ตลอดจนใช้เป็นวัตถุดิบให้กับโรงงานอุตสาหกรรมกระดาษ (สุทัศน์ เล้าสกุล, 2545) เมื่อมีการนำไผ่มาใช้ประโยชน์มากมาย ทำให้พื้นที่ป่าไผ่ถูกทำลายและลดปริมาณลง ด้วยเหตุนี้จึงมีความจำเป็นที่ต้องปลูกไผ่เพื่อใช้ประโยชน์มากขึ้น การสำรวจพบว่ามีไผ่ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศหลากหลายชนิด เช่น ไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*) ไผ่รวก (*Thysostachys siamensis*) ไผ่สีสุก (*Bambusa blumeana*) และไผ่เลี้ยง (*Bambusa glaucescens*) (สุทัศน์ เดชวิสิทธิ์, 2537) ซึ่งจำนวนนี้มีไผ่ที่อยู่ในภาวะขาดแคลน คือ ไผ่ซางหม่น (*Dendrocalamus sericeus*)

หากมีวิธีการขยายพันธุ์ไผ่ให้ได้ปริมาณมากในเวลาอันสั้น ไผ่จะกลายเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายหลากทั่วโลก สำหรับต่างประเทศการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นวิธีการที่มีประโยชน์ในการขยายพันธุ์ไผ่หลายชนิดเช่น *Bambusa edulis*, *B. tulda*, *B. vugaris* (ไผ่เหลืองหรือไผ่จีน), *B. oldhamii, B. beecheyana*, *Dendrocalamus giganteus* (ไผ่เป๊าะหรือไผ่เปราะ), *D. stictus* (ไผ่ซางดอย), *D. hamiltmii* (ไผ่หก), *Sinocalamus latiflora*, *Otatea acuminata aztecorum*. โดยมีการศึกษาการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณของไผ่ใน

หลอดทดลองโดยการใช้เนื้อเยื่อเริ่มต้นที่แตกต่างกัน (Chaturvedi et al., 1993; Lin & Chang, 1998; Lin et al., 2003; Prutpongse & Gavinlertvatana, 1992; Sanjay Saxena, 1990) การชักนำให้เกิดต้นโดยผ่านกระบวนการเกิด somatic embryo (Chang, 1991; Lin et al., 2003; Rout & Das, 1994; Woods et al., 1992) สำหรับในประเทศไทยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการขยายพันธุ์ไผ่ ได้มีการทดลองให้เกิดต้นโดยผ่านกระบวนการชักนำให้เกิดแคลลัส และการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณใน *Bambusa blumeana* (ไผ่สีสุก), *Dendrocalamus strictus* (ไผ่ซาง), *Thyrsostachys siamensis* (ไผ่รวก), *D. membranceus* (ไผ่ซางนวล), *D. brandisii* (ไผ่บงใหญ่), *T. oliveri* (ไผ่รวกดำ), *D. aspen* (ไผ่ตง) และ *B. nana* (ไผ่เลี้ยง) (Vongvijitra, 1988; นิ่มนวล วาศนา, 2528; สุธิดา ฉันทานุรักษ์, 2534) และมีรายงานการเพาะเลี้ยงให้เกิดยอดทวีคูณของไผ่ต่างๆ *D. asper* (ไผ่ตง), *D. membranaceus* Monro (ไผ่ซางดอย), *B. arundinaceae* Willd (ไผ่ผา) และ *T. siamensis* Gamble (ไผ่รวก) (อภิศักดิ์ ดวงมณี, 2549) อย่างไรก็ตามยังไม่มีผู้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่ซางหม่น

สำหรับการชักนำให้เกิดคัลลัสในไผ่ มีผู้ทำการศึกษาไว้ในไผ่หลายชนิด โดยมีการใช้ชิ้นส่วนเริ่มต้นในการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกันเมื่อได้คัลลัส จึงพัฒนาคัลลัสให้เป็นยอดและทำให้ยอดออกรากต่อไป โดยการชักนำให้เกิดคัลลัสนั้นใช้สารควบคุมการเติบโตในกลุ่มออกซิน เช่น 2,4-D และ Picloram (Chang, 1991)

ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อหาอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากส่วนข้อ
2. เพื่อหาอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากชิ้นส่วนยอด
3. เพื่อหาอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการขยายกลุ่มคัลลัส
4. เพื่อหาอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการชักนำยอดจากกลุ่มคัลลัส
5. เพื่อหาอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการชักนำกลุ่มยอดให้เกิดราก

ขอบเขตการศึกษา

1.ศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากตาที่ส่วนข้อบนอาหาร 4 สูตร
2. ศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากชิ้นส่วนยอดที่ข้อ 11 สูตร
3. ศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการขยายกลุ่มคัลลัส 6 สูตร
4. ศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัส 10 สูตร
5. ศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโต KN, BA และ NAA ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัส 5 สูตร
6. ศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการชักนำกลุ่มยอดให้เกิดราก 7 สูตร

7. ศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโต KN, IBA และ NAA ต่อการชักนำยอดให้เกิดราก 6 สูตร

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถการชักนำให้เกิดยอดจากตาข้าง คัลลัส ขยายคัสลัส ชักนำให้เกิดยอดและราก ของไผ่ซางหม่น‘นวลราชินี’ (*Dendrocalamus sericeus* Munro)
3. เพื่อเป็นแนวทางในการขยายไผ่ซางหม่นโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในเชิงพาณิชย์
4. เพื่อเป็นประโยชน์ในด้านการปรับปรุงพันธุ์

บทที่ 2

วรรณกรรมที่เกี่ยงข้อง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนข้อ

การนำยอดที่ได้จากส่วนข้อของต้นไผ่หก (*Dendrocalamus hamiltonii*) มาชักนำให้เกิดคัลลัสบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย Benzyladenine (BA) 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2, 4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อมานำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีความเข้มข้นของ BA เพิ่มขึ้นสามารถชักนำให้เกิดเอ็มบริโอ แล้วนำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากฮอร์โมน เพื่อให้เจริญไปเป็นต้นได้ 80 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 21 วัน เมื่อนำออกปลูกภายในโรงเพาะชำก่อนย้ายปลูกลงดิน มีชีวิตรอด 78 เปอร์เซ็นต์ ส่วน Lin และ คณะ (2004) ศึกษาผลของ TDZ ต่อการพัฒนาเป็นกลุ่มเซลล์แคลลัสเพื่อกำเนิดเอ็มบริโอและสามารถพัฒนาจนเกิดดอกของไผ่ *B. edulis* จากเนื้อเยื่อส่วนข้อ เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ 0.046 ไมโครโมลาร์ (0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร) ร่วมกับ 2,4-D 13.6 ไมโครโมลาร์ (3 มิลลิกรัมต่อลิตร) และน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ เกิดเอ็มบริโอ ต่อมานำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ 0.455 ไมโครโมลาร์ (0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร) สามารถพัฒนาไปเป็นต้นได้ 80 เปอร์เซ็นต์ เกิดดอกแต่ไม่มีเมล็ด

การเพาะเลี้ยงละอองเรณู

การชักนำให้เกิดแคลลัสจากอับเรณูของไผ่ *Sinocalamus latiflora* (Munro) McClure โดยเพาะเลี้ยงอับเรณูบนสูตรอาหารของ Chu และคณะ (1975) ที่ประกอบด้วย 2,4-D 1 มิลลิกรัมต่อลิตร BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร activated charcoal 2 มิลลิกรัมต่อลิตร วุ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ และน้ำตาลกลูโครส 9 เปอร์เซ็นต์ และพบว่า ไมโคร สปอร์ที่ระยะ mid-uninucleate ถึง early-binucleate มีการตอบสนองที่ดีสามารถชักนำให้เกิดคัลลัสและสามารถพัฒนาเป็นมาติกเอ็มบริโอและเกิดราก โดยจำนวนโครโมโซมจากเซลล์ปลายรากของต้นไผ่ที่เกิดจากอับเรณูพบว่าเป็นครึ่งหนึ่ง (N=36) ของโครโมโซมทั้งหมด (Tsay et al., 1990)

การเพาะเลี้ยงเมล็ด

ส่วนใหญ่มีการผลิต somatic embryos จาก zygotic embryo ในเมล็ด เช่น ในไผ่ซาง (*Dendrocalamus strictus*), ไผ่เหลือง (*Bambusa vulgaris*), ไผ่เป๊าะ (*Dendrocalamus giganteus*)(Rao et al., 1985; Rout & Das, 1994; Sanjay Saxena, 1990) การชักนำให้เกิดคัลลัสจากเมล็ด และยอดที่เกิดจากเมล็ดของไผ่ซาง (*Dendrocalamus stictus*) ไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) และไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis*) พบว่า 2, 4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชัก

นำให้เกิดคัลลัส และพัฒนาเป็นต้นได้ในอาหารที่ไม่มี 2,4-D (สุธิดา ฉันทานุรักษ์, 2534) การเพาะเลี้ยงเมล็ดไผ่ป่า (*Bambusa bambos*) บนอาหารสูตร N_6 ของ Chu และคณะ (1975) ที่เติมน้ำตาล 5 เปอร์เซ็นต์ แล้วย้ายลงเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร N_6 ที่เติม 2,4-D 29.82 ไมโครโมลาร์ (6.6 มิลลิกรัมต่อลิตร) เพื่อชักนำให้เกิดคัลลัส จากนั้นนำคัลลัสเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร N_6 ที่เติม 2,4-D 29.82 ไมโครโมลาร์ (6.6 มิลลิกรัมต่อลิตร) ร่วมกับ BAP 53.25 ไมโครโมลาร์ (12 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ polyvinylpyrrolidine (PVP) 250 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้คัลลัสพัฒนาเป็นเอ็มบริโอจำนวนมาก (Mehta et al., 1982) กระบวนการเกิดต้นจากคัลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงไซโกตของไผ่ *Sinocalamus latiflora* (Munro) McClure บนอาหารสูตร MS ประกอบด้วย 2,4-D 6 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 3 มิลลิกรัมต่อลิตร PVP 250 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ ต่อมาย้ายคัลลัสลงบนอาหารสูตรเดิมสามารถพัฒนาไปเป็นยอด และพัฒนาไปเป็นต้นที่สมบูรณ์บนอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (Yeh & Chang, 1987) ส่วน Saxena และ Dhawan (1999) ทำการชักนำให้เกิดคัลลัสจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดของไผ่ซาง (*D. strictus* Nees) บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2, 4-D 29.82 ไมโครโมลาร์ (6.6 มิลลิกรัมต่อลิตร) โดยเลี้ยงในที่มืด ย้ายคัลลัสลงเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2, 4-D 29.82 ไมโครโมลาร์ (6.6 มิลลิกรัมต่อลิตร) Kn 3.25 ไมโครโมลาร์ (0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร) IBA 2.46 ไมโครโมลาร์ (0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ polyvinylpyrrolidone (PVP) 250 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดยอด 2-5 เท่า ทุกๆ 5 สัปดาห์ แล้วทำการชักนำให้เกิดรากบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย NAA 3.76 ไมโครโมลาร์ (0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ IBA 2.46 ไมโครโมลาร์ (0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) เมื่อย้ายปลูกมีชีวิตรอด 80 เปอร์เซ็นต์

การเพาะเลี้ยงดอกช่อเทียม

มีการชักนำให้เกิดคัลลัส และ somatic embryos จากดอกช่อเทียม (pseudospikelets) ของไผ่ *Bambusa edulis* (Gielis et al., 2004; Lin et al., 2003) สำหรับไผ่ *balcooa* (*Bambusa balcooa* Roxburgh) ชักนำให้เกิดคัลลัสโดยเพาะเลี้ยงดอกช่อเทียม บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D 4.5 ไมโครโมลาร์ (1 มิลลิกรัมต่อลิตร) ในที่มืดเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ย้ายคัลลัสลงในอาหารเดิม เลี้ยงในที่มีแสงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ เกิด somatic embryos และชักนำให้เกิดยอดและรากบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA 22.2 ไมโครโมลาร์ (5 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ 4.44 ไมโครโมลาร์ (1 มิลลิกรัมต่อลิตร) ตามลำดับ(Gillis et al., 2007)

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบ

การเลี้ยงปลายยอดที่มีใบอ่อนขนาด 2-5 มิลลิเมตร ที่เกิดจากตาข้างของไผ่ 4 ชนิด คือ ไผ่ลุ่ยจู๋ (*B. oldhamii* Morro), ไผ่เลี้ยง [*B. multiplex* (Loureiro) Reauschell], *Sasa pygmaea*

(Miquel) E.G. Camus และ ไผ่กระดองเต่าเล็ก (*Phyllostachys aurea*) บนอาหารที่มีเกลือของธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองของ MS วิตามินและไกลซีนตามสูตรของ White (White, 1964) 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาล sucrose 3 เปอร์เซ็นต์ วุ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงในสภาพมืดตลอดเวลา สามารถชักนำใบอ่อนให้เกิดคัลลัสและคัลลัสเจริญได้ 300 มิลลิกรัม ในเวลา 4 สัปดาห์ โดยออกซินชนิดอื่น คือ IAA หรือ NAA ไม่สามารถชักนำให้ใบอ่อนเกิดคัลลัสแต่เนื้อเยื่อเกิดสีน้ำตาลและตายในที่สุด สารกลุ่มไซโทไคนินไม่มีความจำเป็นต่อการชักนำให้เกิดคัลลัส สำหรับวิตามินที่มีความสำคัญต่อการเกิดคัลลัส คือ Thiamine HCl ส่วน nicotinic acid ไม่มีผลต่อการเจริญของคัลลัส แต่มีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อเยื่อ (Huang & Murashige, 1983) สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของไผ่สีสุก (*Bambusa blumeana*) สามารถชักนำให้เกิดคัลลัสได้ภายใน 4 สัปดาห์ บนอาหารสูตร Lloyd and McCown woody plant (Lloyd & McCown, 1980) ที่ระดับความเข้มข้นเกลือของธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง 1, 2 และ 3 เท่า โดยเติมน้ำตาล 2 เปอร์เซ็นต์ วุ้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ และ 2, 4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื้อเยื่อที่เลี้ยงบนอาหารที่มีระดับเกลือ 2 เท่า เกิดคัลลัสมากที่สุดถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เนื้อเยื่อบนอาหารที่มีระดับเกลือแร่ 1 เท่า และ 3 เท่า เกิดคัลลัส 40 เปอร์เซ็นต์ และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (นิ่มนวล วาศนา, 2528) ส่วนการใช้กาบใบอ่อนของไผ่ทอง (*Schizostachyum brachyandum*) และไผ่สีสุก (*Bambusa blumeana*) มาเลี้ยงบนอาหารที่มี 2, 4-D คัลลัสเกิดขึ้นบนกาบใบอ่อน แต่คัลลัสนี้ไม่พัฒนาเป็นเอ็มบริโอ นำคัลลัสที่ได้มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดยอด แล้วชักให้ยอดเกิดรากบนอาหารสูตร MS ที่เติม indole-3-butyric acid (IBA) หรือ α-naphtaleneacetic acid (NAA) 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (สุธิดา ฉันทานุรักษ์, 2534)

การชักนำให้เกิดคัลลัสในไผ่สกุล *Phyllostachys* โดยเพาะเลี้ยงส่วนของใบไผ่หวางผีลวี่จิน จู๋ [*Phyllostachys viridis* (Young) McClure] บนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 9.05 ไมโครโมลาร์ (2 มิลลิกรัมต่อลิตร) เกิดคัลลัส และเกิดยอดในเวลาต่อมา ย้ายยอดลงเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS เลี้ยงบนเครื่องเขย่า เกิดการพัฒนาไปเป็นต้น ภายใน 2 สัปดาห์ (El Hassan & Debergh, 1987) (สำหรับในไผ่ดำ (*Phyllostachys nigra* Munro var. *Henonis*) ได้มีการศึกษากรดอมิโนอิสระในคัลลัส โดยการชักนำคัลลัสจากยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D 3 ไมโครโมล่าร์ (0.65 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่าในคัลลัสมี glutamine, g-aminobutyric acid, and alanine เป็นส่วนใหญ่ ขณะที่ asparagine and tyrosine พบมากมากในยอด (Ogita, 2005) ตัวอย่างเช่นในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Japanese cedar หรือ redwood (*Cryptomeria japonica*) glutamine จัดเป็นสารที่ส่งเสริมการเติบโตของพืชเพาะเลี้ยง โดย glutamine ภายในพืชและหรือภายนอกพืชที่อยู่ในอาหารเพาะเลี้ยงมีบทบาทสำคัญในการเกิดและและการพัฒนา somatic embryo (Ogita et

al., 2001) ส่วนในไผ่เหมาจู๋ หรือไผ่ Moso [*Phyllostachys heterocycla* var. *pubescens* (Mazel ex J. Houz.) Ohwi] มีการชักนำให้เกิด embryogenic callus จาก zygotic embryo ในเมล็ดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2, 4-D 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ zeatin (ZT) 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย 50 เปอร์เซ็นต์ ของชิ้นส่วนพืชเกิดคัลลัส จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณคัลลัสบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2, 4-D 0.5-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ zeatin (ZT) 0.1 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำคัลลัสให้เกิด somatic embryos และยอด บนอาหารที่ประกอบด้วย ZT 5.0–7.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วชักนำให้เกิดรากบนอาหารที่ประกอบด้วย NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (Yuan et al., 2013)

ในไผ่น้ำเต้า (*Bambusa ventricosa*) (Cheah & Chaille, 2011) การเพาะเลี้ยงส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ที่มีวิตามิน *Phyto*tech Labs® product M519 และประกอบด้วย BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ยอดที่ได้นำมาชักนำให้เกิด embryogenic callus บนอาหารที่ประกอบด้วย 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 6 สัปดาห์ จากนั้นย้ายลงอาหารที่ประกอบด้วย 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, kinetin 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ทุกสัปดาห์เพื่อขยาย embryogenic callus แล้วชักนำให้เกิด somatic embryos บนอาหารที่ประกอบด้วย BA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นชักนำให้เกิดต้นที่สมบูรณ์บนอาหารสูตร Lloyd and McCown woody plant basal salt medium (Lloyd & McCown, 1980) ที่ประกอบด้วย MS vitamins และ BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

การชักนำให้เกิดคัลลัสในไผ่สกุล *Dendrocalamus*

มีรายงานการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อให้เกิดต้นที่สมบูรณ์โดยผ่านการเกิดคัลลัสในไผ่สกุล *Dendrocalamus* หลายชนิด เช่น ในไผ่ *D. farinosus* (Keng et Keng f.) Chia et H.L. Fung โดยการใช้เมล็ดหรือยอดเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T) 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดคัลลัส โดยเกิดคัลลัส 96 และ 29.7 เปอร์เซ็นต์ ในเมล็ด และยอดตามลำดับ ชักนำคัลลัสให้เกิดยอดในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย Kn 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดยอด 91.2 เปอร์เซ็นต์ ได้จำนวนยอด 6.34 ยอดต่อกลุ่มคัลลัส ที่มีความยาว 5.36 เซนติเมตร และชักนำให้เกิดรากบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IAA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร (Hu et al., 2001) สำหรับไผ่หก (*D. Hamiltonii*) ใช้ส่วนฐานของยอดที่แตกจากข้อของต้นอายุ 10 ปี และ 45 ปี เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2,4-D 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดคัลลัสได้ 73.3-80.0 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 8 สัปดาห์ จากนั้นย้ายคัลลัสลงเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ประกอบด้วย BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2,4-D 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเพาะเลี้ยง 5-6 รอบการเพาะเลี้ยง รอบละ 4 สัปดาห์ เพื่อชักนำคัลลัสให้เกิดโซมาติก

เอ็มบริโอ 90-93 เปอร์เซ็นต์ (19.2-19.5 เอ็มบริโอต่อกลุ่มคัลลัส) และต้น 11.3-11.9 ต้นต่อกลุ่มคัลลัส ชักนำให้เกิดรากในอาหารเหลวสูตร ½ MS ที่ประกอบด้วย IBA 20 ไมโครโมลาร์ (4.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) (Bag et al., 2012) อย่างไรก็ตามมีการชักนำให้เกิดคัลลัสจากปลายยอด (shoot tips) โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2, 4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, glutamine 500 มิลลิกรัมต่อลิตร, proline 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ casein hydrolysate 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลดีในการเกิดคัลลัสแบบ granular-compact ชักนำให้เกิดยอดบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, kinetin 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร การชักนำให้เกิดรากได้ดีที่สุดบนอาหารสูตร ½ MS ที่ประกอบด้วย IBA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (Zang et al., 2016) ในไผ่เป๊าะ (*D. giganteus*) นำเอ็มบริโอจากเมล็ดมาชักนำให้เกิดคัลลัสโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย วิตามินจากสูตร B5, 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ KN 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้คัลลัสแบบ greenish white nodular และ compact (organogenic callus) นำคัลลัสเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้ 12 ยอดต่อกลุ่มคัลลัส ในเวลา 1 เดือน ทำการชักนำให้เกิดรากในอาหารสูตร ½ MS ที่ประกอบด้วย IBA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 10 วัน แล้วย้ายลงอาหารที่ปราศจาก IBA มีการออกราก 86 เปอร์เซ็นต์ ได้ 13 รากต่อต้น ในเวลา 40 วัน(Devi et al., 2012) ส่วนการชักนำให้เกิด embryogenic callus และ somatic embryos ในไผ่สกุล *Dendrocalamus* 2 ชนิด โดยใช้ส่วนฐานของใบ (ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงข้อ) เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D และน้ำตาล sucrose 2 เปอร์เซ็นต์ ในที่มืด โดยในไผ่ตง (*D. asper*) เกิดคัลลัส 3-5 เท่าทุก 4 สัปดาห์ บนอาหารที่ประกอบด้วย 2,4-D 9 ไมโครโมลาร์ (2 มิลลิกรัมต่อลิตร) NAA 2.85 ไมโครโมลาร์ (0.55 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ BA 0.88 ไมโครโมลาร์ (2 มิลลิกรัมต่อลิตร) somatic embryos พัฒนาไปเป็นต้นบนอาหารที่ประกอบด้วย BA 4.4 ไมโครโมล่าร์ (1 มิลลิกรัมต่อลิตร) ร่วมกับ GA3 2.8 ไมโครโมลาร์ (1 มิลลิกรัมต่อลิตร) ส่วนในไผ่หก (*D. hamiltonii*) embryogenic callus เกิดบนอาหารที่ประกอบด้วย 2,4-D 10 ไมโครโมลาร์ (2.2 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ BAP 5 ไมโครโมลาร์ (1.15 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ somatic embryos พัฒนาไปเป็นต้นบนอาหารที่ประกอบด้วย BA 5 ไมโครโมลาร์ (1.15 มิลลิกรัมต่อลิตร) (I. Arya & Arya, 2015)

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการดำเนินการวิจัย

1. อุปกรณ์ที่ใช้ในการค้นคว้า

1.1 พืชทดลอง

- ต้นไผ่ซางหม่น (จังหวัดสระแก้ว)

1.2 สารเคมีที่ใช้เตรียมอาหาร

1.2.1 สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร

- MS (Murashige and Skoog, 1962)
- Gelrite (SIGMA, USA.Cat. No. 043K0095)
- Agar Power, Bacteriological (RM 026)

1.2.2 สารเคมีควบคุมการเจริญเติบโต

- Benzyladenine (BA)
- Kinetine (Kn)
- 3-Indolebutylric acid (IBA)
- α-naphthaleneacetic acid (NAA)
- Indole-3-acetic acid (IAA)
- 2 4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)
- Thidiazuron (TDZ)

1.2.3 สารเคมีที่ใช้ฆ่าเชื้อ

- Ethylalcohol 95%
- Mercuric chloride
- ไฮเตอร์ (Sodium Hypochlorite ; NaOCl)
- Tween 20

1.3 เครื่องมือ

1.3.1 อุปกรณ์และวัสดุสำหรับใช้เตรียมอาหาร

- เครื่องชั่งแบบละเอียดและหยาบ
- เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส
- หม้อนึ่งความดันไอ

- กระบอกตวง
- ปิเปต
- ช้อนตักสารเคมี
- บีกเกอร์ขนาดต่างๆ
- ภาชนะบรรจุอาหารพร้อมฝาปิด
- แท่งแก้ว
- ขวดรูปชมพู่ขนาดต่างๆ

1.3.2 อุปกรณ์และวัสดุสำหรับตัดและถ่ายเนื้อเยื่อ

- ตู้ปลอดเชื้อ
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- จานแก้ว
- ด้ามมีดเบอร์ 4 และ7 พร้อมใบมีดเบอร์ 11 และ 24
- ปากคีบ
- ขวดแช่เครื่องมือ

2. วิธีดำเนินการวิจัย

1. การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อ

นำส่วนข้อจากกิ่งแขนง ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.4-0.8 เซนติเมตร ยาว 4 เซนติเมตร ล้างด้วยน้ำสบู่ หรือ น้ำยาล้างจาน 10 เปอร์เซ็นต์ และน้ำเปล่าให้สะอาด จุ่มข้อในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2 นาที โดยเขย่าเบาๆทุก 1 นาที ย้ายข้อลงในไฮเตอร์ (Sodium Hypochlorite ; NaOCl) 10 % เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นย้ายลง mercuric chloride 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที เขย่าเบาๆ ทุก 1 นาที ล้างด้วยน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที แล้วนำข้อที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อมาตัดแล้วเลี้ยงบนอาหารสูตรของ Murashige and Skoog (1962) ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และวุ้น 5.8 กรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ปรับความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 5.7 ด้วย สารละลาย 0.1 นอร์มอล Potassium hydroxide หรือ Hydrochloric acid นำไปเลี้ยงในสภาพที่มีความเข้มแสงประมาณ 35-40 µmol. $m^{-2}.s^{-1}$ อุณหภูมิ 25 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส การทดลองนี้มีสูตรอาหาร 4 สูตร สูตรละ 15 ขวด รวม 90 ขวด เก็บผลการทดลองเป็นเวลา 2 สัปดาห์

การบันทึกผลการทดลอง

1. เปอร์เซ็นต์ของชิ้นส่วนข้อที่เกิดยอดจากตาข้าง
2. จำนวนยอดที่เกิดจากตาข้าง

3. ความสูงของยอด

4. ลักษณะการเจริญเติบโตของยอด

5. วิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติโดย Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

2. **การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากส่วนของยอด**

นำยอดจากส่วนข้อ ที่มีความสูง 2.0-3.0 เซนติเมตร ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงข้อในอาหารกึ่งแข็งสูตรที่ชักนำให้เกิดยอดได้ดีที่สุด จากการทดลองที่ 1 มาตัดตามขวางให้มีขนาด 0.5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง เพื่อชักนำให้เกิดคัลลัส บนสูตรอาหารต่างๆ 11 สูตร ดังนี้

สูตรที่ 1 MS (ชุดควบคุม)
สูตรที่ 2 MS + 2,4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร
สูตรที่ 3 MS + 2,4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร
สูตรที่ 4 MS + 2,4-D 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร
สูตรที่ 5 MS + 2,4-D 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร
สูตรที่ 6 MS + 2,4-D 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร
สูตรที่ 7 MS + 2,4-D 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร
สูตรที่ 8 MS + 2,4-D 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
สูตรที่ 9 MS + 2,4-D 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
สูตรที่10 MS + 2,4-D 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
สูตรที่11 MS + 2,4-D 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

การทดลองนี้ประกอบด้วยสูตรอาหาร 11 สูตร แต่ละสูตรเติม glutamine 500 มิลลิกรัมต่อลิตร, proline 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ casein hydrolysate 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น (gelrite) 2 กรัมต่อลิตร ทำการทดลองสูตรละ 15 ซ้ำ โดยใช้ 3 ชิ้นส่วนพืชต่อ 1 ขวด เป็น 1 ซ้ำ เลี้ยงในสภาพที่มีความเข้มแสงประมาณ 35-40 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ อุณหภูมิ 25 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 สัปดาห์ เปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 4 สัปดาห์

การบันทึกผลการทดลอง

1. เปอร์เซ็นต์ของชิ้นส่วนเริ่มต้นที่เกิดคัลลัส

2. การเจริญเติบโตของคัลลัสโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง (เซนติเมตร)

3. ลักษณะของคัลลัส

4. วิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติโดย Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3. การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการขยายกลุ่มคัลลัส

นำกลุ่มคัลลัสที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ให้ผลในการชักนำให้เกิดคัลลัสได้ดีที่สุดจากการทดลองที่ 2 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง เพื่อให้คัลลัสมีการเพิ่มปริมาณ บนสูตรอาหารต่างๆ 6 สูตร ดังนี้

สูตรที่ 1 MS (ชุดควบคุม)

สูตรที่ 2 MS + 2,4-D 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 3 MS + 2,4-D 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 4 MS + 2,4-D 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 5 MS + 2,4-D 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + BA 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 6 MS + 2,4-D 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + BA 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

การทดลองนี้ประกอบด้วยสูตรอาหาร 6 สูตร แต่ละสูตรเติม PVP 250 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น (gelrite) 2 กรัมต่อลิตร ทำการทดลองสูตรละ 15 ซ้ำ นำไปเลี้ยงในสภาพที่มีความเข้มแสงประมาณ 35-40 μmol m^{-2} s^{-1} อุณหภูมิ 25 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ เปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 4 สัปดาห์

การบันทึกผลการทดลอง

1. เปอร์เซ็นต์ของชิ้นส่วนคัลลัสเริ่มต้นที่มีการเติบโต
2. การเติบโตของคัลลัสโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง (เซนติเมตร)
3. ลักษณะของคัลลัส
4. วิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติโดย Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น95 เปอร์เซ็นต์

4. การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัส

นำกลุ่มคัลลัสที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ให้ผลในการชักนำให้เกิดคัลลัสได้ดีที่สุดจากการทดลองที่ 3 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2 เซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง เพื่อให้ชักนำให้เกิดยอด บนสูตรอาหารต่างๆ 9 สูตร ดังนี้

สูตรที่ 1 MS (ชุดควบคุม)

สูตรที่ 2 MS + BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 3 MS + BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 4 MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 5 MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 6 MS + Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 7 MS + Kn 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 8 MS + Kn 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + IAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 9 MS + Kn 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + 2,4-D 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 10 MS + Kn 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + 2,4-D 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

การทดลองนี้ประกอบด้วยสูตรอาหาร 10 สูตร แต่ละสูตรเติม PVP 250 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น (gelrite) 2 กรัมต่อลิตร ทำการทดลองสูตรละ 10 ซ้ำ นำไปเลี้ยงในสภาพที่มีความเข้มแสงประมาณ 35-40 μmol m^{-2} s^{-1} อุณหภูมิ 25 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์

การบันทึกผลการทดลอง

1. เปอร์เซ็นต์ของกลุ่มคัลลัสที่เกิดยอดในอาหารสูตรต่างๆ
2. จำนวนยอด
3. ลักษณะของยอด
4. วิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติโดย Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

5. **การศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโต** KN, BA **และ** NAA **ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัส**

นำกลุ่มคัลลัสที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ให้ผลในการชักนำให้เกิดคัลลัสได้ดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2 เซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง เพื่อให้ชักนำให้เกิดยอด บนสูตรอาหารต่างๆ 5 สูตร ดังนี้

สูตรที่ 1 MS (ชุดควบคุม)

สูตรที่ 2 MS + NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 3 MS + BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 4 MS + KN 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 5 MS + KN 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

การทดลองนี้ประกอบด้วยสูตรอาหาร 10 สูตร แต่ละสูตรเติม adenine sulphate 40 มิลลิกรัมต่อลิตร TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น (gelrite) 2 กรัมต่อลิตร ทำการทดลองสูตรละ 10 ซ้ำ นำไปเลี้ยงในสภาพที่มีความเข้มแสงประมาณ 35-40 μmol m^{-2} s^{-1} อุณหภูมิ 25 $\pm$ 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 สัปดาห์

การบันทึกผลการทดลอง

1. เปอร์เซ็นต์ของกลุ่มคัลลัสที่เกิดยอดในอาหารสูตรต่างๆ
2. จำนวนยอด

3. ลักษณะของยอด

4. วิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติโดย Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

6. การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำยอดให้เกิดราก

นำกลุ่มยอดที่ได้จากการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณ 3 ยอดต่อกลุ่ม จากการทดลองที่ 1 มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย บนสูตรอาหารต่างๆ 7 สูตร ดังนี้

สูตรที่ 1 MS (ชุดควบคุม)

สูตรที่ 2 MS + IBA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 3 MS + IBA 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 4 MS + IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 5 MS + IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 6 MS + IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 7 MS + IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

การทดลองนี้ประกอบด้วยสูตรอาหาร 7 สูตร แต่ละสูตรเติมซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น (gelrite) 2 กรัมต่อลิตร ทำการทดลองสูตรอาหารละ 10 ซ้ำ นำไปเลี้ยงในสภาพที่มีความเข้มแสงประมาณ 35-40 μmol m^{-2} s^{-1} อุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์

การบันทึกผลการทดลอง

1. เปอร์เซ็นต์การเกิดรากจากกลุ่มยอด

2. จำนวนรากและความยาวรากจากกลุ่มยอด

3. ลักษณะการเจริญเติบโตของราก

4. นำผลการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติโดย Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

7. การศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโต KN, IBA **และ** NAA **ต่อการชักนำยอดให้เกิดราก**

นำกลุ่มยอดที่ได้จากการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณ 3 ยอดต่อกลุ่ม จากการทดลองที่ 1 มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย บนสูตรอาหารต่างๆ 6 สูตร ดังนี้

สูตรที่ 1 MS (ชุดควบคุม)

สูตรที่ 2 MS + IBA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 3 MS + NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 4 MS + NAA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 5 MS + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + KN 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 6 MS + IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + KN 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

การทดลองนี้ประกอบด้วยสูตรอาหาร 7 สูตร แต่ละสูตรเติมซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น (gelrite) 2 กรัมต่อลิตร ทำการทดลองสูตรอาหารละ 10 ซ้ำ นำไปเลี้ยงในสภาพที่มีความเข้มแสงประมาณ 35-40 μmol m^{-2} s^{-1} อุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์

การบันทึกผลการทดลอง

1. เปอร์เซ็นต์การเกิดรากจากกลุ่มยอด
2. จำนวนรากและความยาวรากจากกลุ่มยอด
3. ลักษณะการเจริญเติบโตของราก
4. นำผลการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติโดย Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 4

ผลการทดลอง

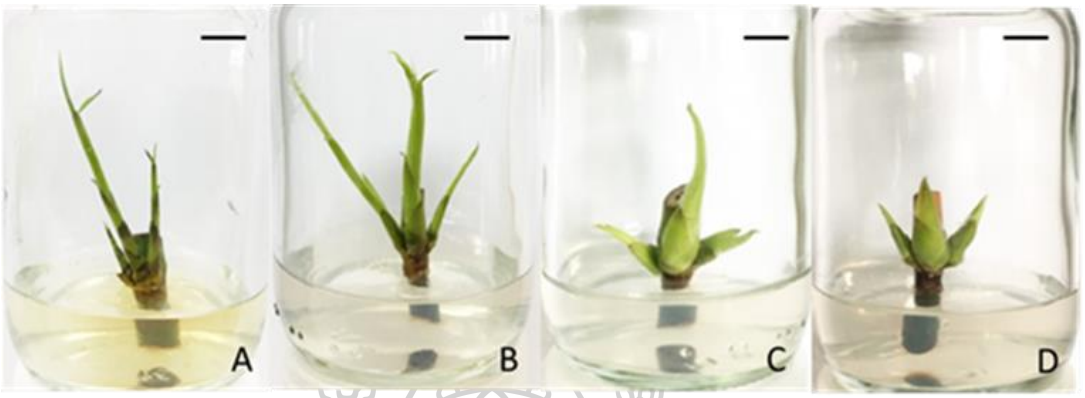
การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโตในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS **ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อของไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี'**

นำชิ้นส่วนข้อจากกิ่งแขนง ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.4 – 0.8 เซนติเมตร ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 0, 3, 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่าจำนวนยอดที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารทุกสูตรมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $P \leq 0.05$ (ตารางที่ 1) มีจำนวนยอดเฉลี่ย 2.4 – 3.9 ยอด (ตารางที่ 1; รูปที่ 1A, 1B, 1C, 1D) โดยอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเติบโต BA ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดเฉลี่ยและความสูงเฉลี่ยมากที่สุด 3.9 ยอดต่อข้อ และ 3.40 เซนติเมตร ตามลำดับ (รูปที่ 1B) ยอดที่ได้มีลักษณะ ยาว เรียว สีเขียว และพบว่าเมื่อเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเติบโต BA ความเข้มข้นที่สูงขึ้นถึง 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความสูงของยอดลดลง โดยมีความสูงเฉลี่ย 2.5 และ 1.93 เซนติเมตร ตามลำดับ และให้จำนวนยอดลดลง 3.1 และ 2.5 ยอดต่อข้อ ตามลำดับ (รูปที่ 1C, 1D) ลักษณะของยอดในอาหารสองสูตรนี้ คือ ยอดสั้น ใบบานออก ยอดมีสีเขียวเหลือง ส่วนในอาหารสูตรที่ไม่เติมสารควบคุมการเติบโตให้ความสูงเฉลี่ยของยอดและจำนวนยอดเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ 1.68 เซนติเมตร และ 2.4 ยอดต่อข้อ ตามลำดับ ลักษณะของยอดจะเรียว ใบหนา สีเขียวเข้ม (รูปที่ 1A)

ตารางที่ 1 ผลของ BA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อของไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี' ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์

BA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนยอด*	ความสูงยอด* (เซนติเมตร)
0	2.4 ± 0.6^{b}	1.68 ± 1.30^{b}
3	3.9 ± 1.1^{a}	3.40 ± 0.95^{a}
4	3.1 ± 1.5^{ab}	2.50 ± 1.90^{ab}
5	2.5 ± 1.1^{b}	1.93 ± 0.85^{b}

*ทำการทดลอง 15 ซ้ำ; ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± SE) ที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P\leq0.05$) วิเคราะห์โดย DMRT



ภาพที่ 1 ผลของ BA ในอาหารสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อของไผ่ซางหม่นนวลราชินี’ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ (สเกล = 1 เซนติเมตร)

A) ปราศจากสารควบคุมการเติบโต (ชุดควบคุม)

B) BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร

C) BA 4 มิลลิกรัมต่อลิตร

D) BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

มหาวิทยาลัยศิลปากร

การทดลองที่ 2 การศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโตในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS **ต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากส่วนของยอดของไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี'**

นำชิ้นส่วนยอดจากข้อในการทดลองที่ 1 ที่มีความยาวยอดประมาณ 3.0 – 4.0 เซนติเมตร มาตัดตามขวางให้มีความยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1.0, 3.0 หรือ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.5 หรือ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัม หรือ 2,4-D ความเข้มข้น 2.0, 3.0, 4.0 หรือ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 หรือ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร รวมทั้งหมด 11 สูตร แต่ละสูตรเติม glutamine ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร, proline ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ casein hydrolysate ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 2) เป็นเวลา 16 สัปดาห์

จากการทดลองพบว่า อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเติบโตไม่มีการเกิดคัลลัส (ตารางที่ 2, รูปที่ 2A) แต่อาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเติบโตทุกสูตรชักนำให้เกิดคัลลัสได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2, รูปที่ 2B-2K) คัลลัสเกิดบริเวณรอยตัดและที่ตาของยอด โดยอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ขนาดของคัลลัสใหญ่ที่สุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของคัลลัส 0.83 และ 0.80 เซนติเมตร ให้คัลลัสแบบ compact และ friable ตามลำดับ (ตารางที่ 2, รูปที่ 2F และ 2K) โดยให้ขนาดของคัลลัสที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P = 0.05) กับอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D, KN และ IBA (3.0, 0.5 และ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ) และอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D, BA และ NAA (5.0, 1.0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ) โดยให้ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางคัลลัสเท่ากันคือ 0.67 เซนติเมตร (ตารางที่ 2, รูปที่ 2D และ 2G) โดยให้คัลลัสแบบ compact และ mucilaginous ตามลำดับ ส่วนในอาหารสูตรอื่นให้ขนาดของคัลลัสในช่วง 0.51 – 0.58 เซนติเมตร (ตารางที่ 2; รูปที่ 2B, 2C, 2E, 2H, 2I และ 2J) ซึ่งเป็นคัลลัสทั้งแบบ compact, mucilaginous หรือ friable

อาหารแต่ละสูตรให้ลักษณะของคัลลัสที่แตกต่างกัน โดยอาหารในกลุ่มที่มี 2,4-D, KN และ IBA ส่วนใหญ่ให้คัลลัสแบบ compact ลักษณะคัลลัสเป็นกลุ่มเกาะกันแน่น ยกเว้นในสูตรอาหารที่มี 2,4-D ความเข้มข้นสูง (3 หรือ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร) ร่วมกับ BA ความเข้มข้นสูง (2 มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่ ให้คัลลัสแบบ mucilaginous เป็นคัลลัสที่มีลักษณะเป็นกลุ่มก้อนนิ่มใส และฉ่ำน้ำ (ตารางที่ 2, รูปที่ 2E, 2G) ส่วนในกลุ่มอาหารที่ประกอบด้วย 2,4-D, BA และ NAA นั้น อาหารที่มี 2,4-D ความเข้มข้นต่ำ (2 และ 3 มิลิกรัมต่อลิตร) ให้คัลลัสแบบ compact (ตารางที่ 2; รูปที่ 2H และ 2I) ส่วน

อาหารที่มี 2,4-D ความเข้มข้นสูง (4 และ 5 มิลิกรัมต่อลิตร) ให้คัลลัสแบบ friable มีลักษณะเป็นกลุ่มก้อนเกาะกันแบบหลวม ๆ แยกออกจากกันได้ง่าย (ตารางที่ 2, รูปที่ 2J, 2K)

ตารางที่ 2 ผลของ 2,4-D, KN, BA, IBA, NAA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากส่วนยอดของไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี' ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์

สารควบคุมการเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)					การเกิดคัลลัส		
2,4-D	KN	BA	IBA	NAA	% การเกิดคัลลัส	ขนาดคัลลัส (เซนติเมตร)*	ลักษณะคัลลัส**
-	-	-	-	-	0	-	-
1.0	0.5	-	0.4	-	100	0.55±0.07^{c}	compact
1.0	2.0	-	0.4	-	100	0.51±0.21^{c}	compact
3.0	0.5	-	0.4	-	100	0.67±0.17^{ab}	compact
3.0	2.0	-	0.4	-	100	0.54±0.30^{bc}	mucilaginous
5.0	0.5	-	0.4	-	100	0.83±0.26^{a}	compact
5.0	2.0	-	0.4	-	100	0.67±0.22^{ab}	mucilaginous
2.0	-	2.0	-	0.5	100	0.52±0.06^{c}	compact
3.0	-	2.0	-	0.5	100	0.58±0.21b^{c}	compact
4.0	-	1.0	-	0.5	100	0.55±0.21b^{c}	friable
5.0	-	1.0	-	0.5	100	0.80±0.84^{a}	friable

*ทำการทดลอง 15 ซ้ำ; ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± SE) ที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P≤0.05) วิเคราะห์โดย DMRT

**compact callus = คัลลัสลักษณะเป็นกลุ่มก้อนเกาะกันแน่น; friable callus = คัลลัสลักษณะเป็นกลุ่มก้อนเกาะกันแบบหลวม ๆ แยกออกจากกันได้ง่าย; mucilaginous callus = คัลลัสลักษณะเป็นกลุ่มก้อนนิ่ม ใส และฉ่ำน้ำ

ภาพที่ 2 ผลของ 2,4-D, KN, IBA และ NAA ในอาหารสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากส่วนยอดของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 16 สัปดาห์ (สเกล = 0.5 เซนติเมตร)

A) ปราศจากสารควบคุมการเติบโต (ชุดควบคุม)

B) 2,4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + KN 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

C) 2,4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + KN 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

D) 2,4-D 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + KN 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

E) 2,4-D 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + KN 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

F) 2,4-D 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + KN 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

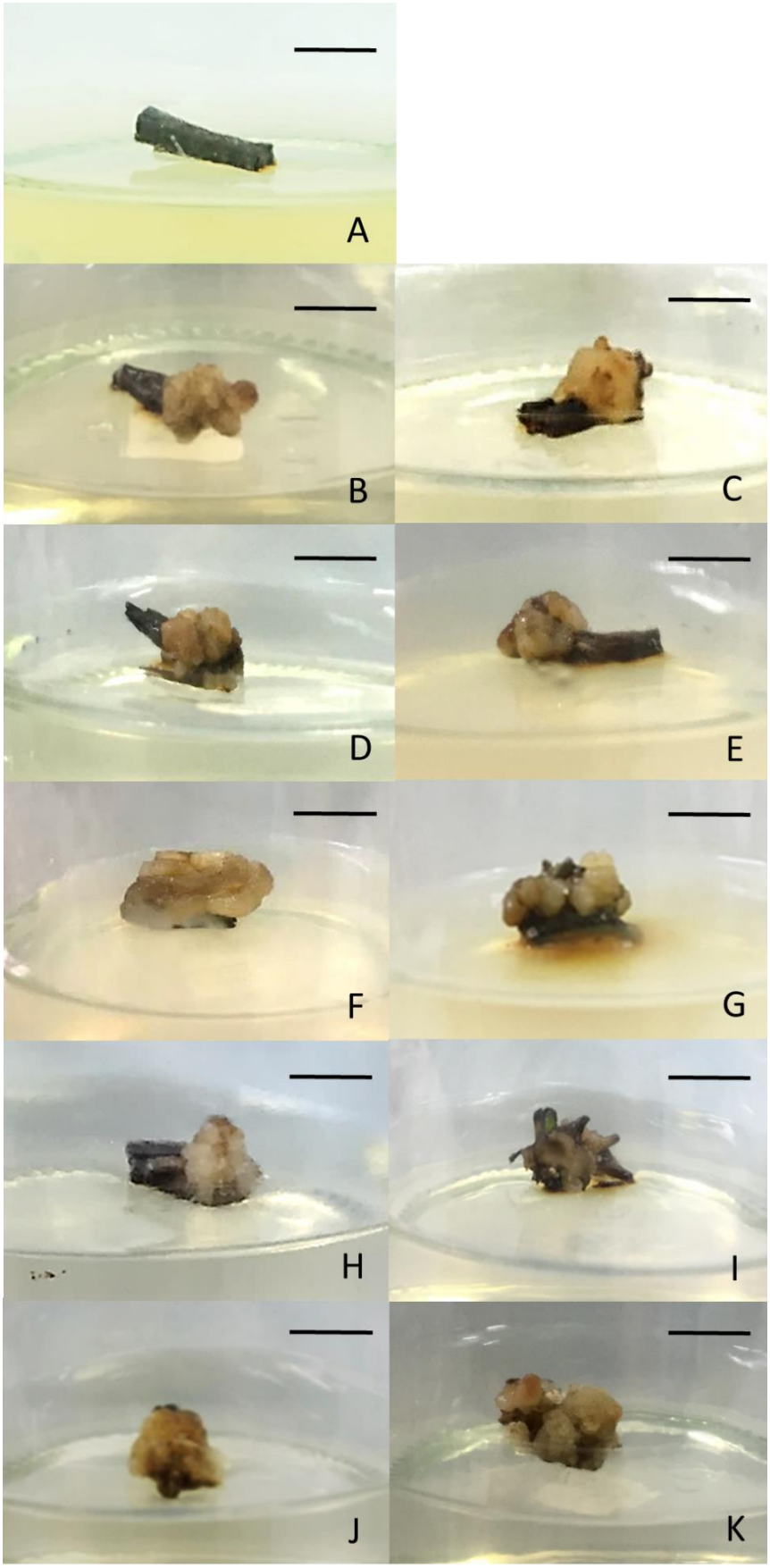
G) 2,4-D 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + KN 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

H) 2,4-D 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

I) 2,4-D 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

J) 2,4-D 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

K) 2,4-D 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร


A
B
C
D
E
F
G
H
I
J
K

การทดลองที่ 3 **การศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโตในอาหารกึ่งแข็งสูตร** MS **ต่อการขยายกลุ่มคัลลัสของไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี'**

นำกลุ่มคัลลัสแบบ compact ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 – 1.0 เซนติเมตร ที่ได้จากอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 1, 5 หรือ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร รวม 6 สูตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

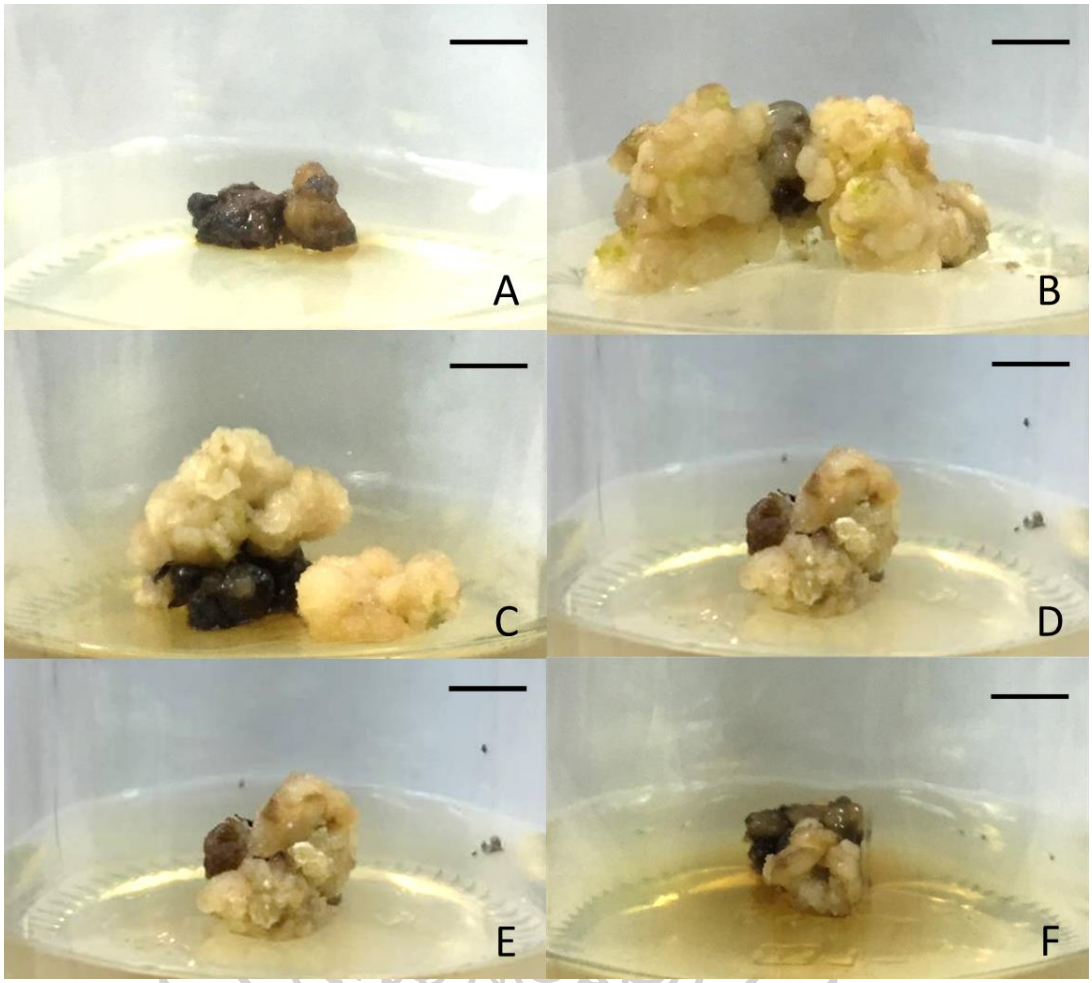
จากการทดลองพบว่า อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีกลุ่มคัลลัสที่มีการเติบโตถึง 70 เปอร์เซ็นต์ และคัลลัสขยายขนาดมากที่สุด ซึ่งแตกต่างจากสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยมีการขยายขนาดของคัลลัสเพิ่มขึ้น 0.94 เซนติเมตร (ตารางที่ 3, รูปที่ 3B) แคลลัสที่ได้มีลักษณะเป็นแบบ compact คือเป็นก้อนเกาะกันแน่น ส่วนที่ขยายเพิ่มขึ้นมีสีขาวเหลือง บางบริเวณเริ่มกลายเป็นสีเขียว แต่ชิ้นส่วนคัสสัสเริ่มต้นเปลี่ยนเป็นสีดำ (รูปที่ 3B) อาหารสูตรอื่นที่ให้คัลลัสแบบ compact คือ อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 5.0 หรือ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีกลุ่มคัลลัสที่มีการเติบโตในช่วง 40 – 70 เปอร์เซ็นต์ และมีการขยายขนาดของคัลลัสที่เพิ่มขึ้น 0.11 – 0.44 เซนติเมตร และคัลลัสที่ได้มีสีขาวเหลืองถึงสีน้ำตาล (ตารางที่ 3, รูปที่ 3C, 3D และ 3E) สำหรับอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเติบโต และอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์ของกลุ่มคัลลัสที่มีการขยายขนาด (30 – 40 เปอร์เซ็นต์) ให้คัลลัสสีเหลืองน้ำตาลแบบ mucilaginous เป็นก้อนใส สีน้ำตาล เหนียว ฉ่ำน้ำ ที่มีการขยายขนาดของคัลลัสที่เพิ่มขึ้น 0.09 – 0.10 เซนติเมตร (ตารางที่ 3, รูปที่ 3A และ 3F)

ตารางที่ 3 ผลของสารควบคุมการเติบโต 2,4-D, KN, IBA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการขยายคัลลัสของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

สารควบคุมการเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)			การเติบโตของคัลลัส			
2,4-D	BA	KN	% กลุ่มคัลลัสที่มีการเติบโต	ขนาดคัลลัสที่เพิ่มขึ้น* (เซนติเมตร)	สีของคัลลัส	ลักษณะคัลลัส
0	0	0	40	0.09±0.07^{c}	น้ำตาลดำ	mucilaginous
3.0	0	2.0	70	0.94±0.54^{a}	ขาวเหลือง	compact
3.0	1.0	0	70	0.43±0.28^{b}	ขาวเหลือง	compact
6.0	0	1.0	60	0.44±0.15^{b}	ขาวเหลือง	compact
6.0	0	5.0	40	0.11±0.13^{c}	เหลืองน้ำตาล	compact
6.0	0	10.0	30	0.10±0.40^{c}	เหลืองน้ำตาล	mucilaginous

*ทำการทดลอง 15 ซ้ำ; ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± SE) ที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P \leq 0.05$) วิเคราะห์โดย DMRT

มหาวิทยาลัยศิลปากร



ภาพที่ 3 ผลของสารควบคุมการเติบโต 2,4-D, KN, IBA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการขยายคัลลัสของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ (สเกล = 0.5 เซนติเมตร)

A) ปราศจากสารควบคุมการเติบโต (ชุดควบคุม)

B) 2,4-D 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร KN 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

C) 2,4-D 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

D) 2,4-D 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร KN 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

E) 2,4-D 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร BA 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

F) 2,4-D 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร BA 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

การทดลองที่ 4 **การศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโตในอาหารกึ่งแข็งสูตร** MS **ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัสของไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี'**

นำคัลลัสแบบ compact ที่มีการขยายขนาดจากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ขนาด 1.0 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติม BA เพียงอย่างเดียว หรือ BA ร่วมกับ IBA หรือ BA ร่วมกับ KN และ NAA หรือ KN ร่วมกับ NAA หรือ KN ร่วมกับ IAA หรือ KN ร่วมกับ 2,4-D ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อให้ชักนำให้เกิดยอด รวม 9 สูตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยใช้ BA ความเข้มข้น 1.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร, KN ความเข้มข้น 0.3, 0.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร, 2,4-D ความเข้มข้น 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร, IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร, NAA 0.3, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการทดลองการเพาะเลี้ยงคัลลัสเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าคัลลัสเริ่มเปลี่ยนจากสีขาวเหลืองเป็นสีเขียวในอาหารสูตร MS ดัดแปลง ทุกสูตร ยกเว้นสูตรที่เติม 2,4-D ร่วมกับ KN (รูปที่ 4A, 4B, 4C, 4D, 4E, 4I, 4J) และพบว่าคัลลัสมีการพัฒนาไปเป็นรากในอาหารสูตร MS ที่เติม KN ร่วมกับ NAA (รูปที่ 4F, 4G)

เมื่อทำการเพาะเลี้ยงครบ 12 สัปดาห์ พบว่าคัลลัสมีการพัฒนาไปเป็นยอด ในอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยกลุ่มคัลลัสมีการเจริญพัฒนาไปเป็นยอด 50 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 5.9±7.1 เซนติเมตร ยอดที่มีขนาดน้อยกว่า 2 มิลลิเมตร มีจำนวน 5.6 ยอด และยอดที่มีขนาดมากกว่า 2 มิลลิเมตร มีจำนวน 0.3 ยอด (ตารางที่ 4, รูปที่ 5D) ซึ่งให้จำนวนยอดทั้งหมดไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารสูตร MS ที่เติม KN ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งให้เปอร์เซ็นต์ของกลุมคัลลัสที่เกิดยอด 30 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนยอดเฉลี่ย 5.6 เซนติเมตร (ตารางที่ 4, รูปที่ 5G), อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และสูตรที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ให้จำนวนยอด 3.2 และ 2.3 ยอด ตามลำดับ ให้เปอร์เซ็นต์ของกลุ่มคัลลัสมีการเจริญพัฒนาไปเป็นยอดเท่ากับ 40 และ 20 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4; รูปที่ 5C และ 5E) สำหรับสูตรที่ให้จำนวนยอดสูงถึง 5.6 ยอด (KN ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร) ให้จำนวนยอดที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารที่เติมสารควบคุมการเติบโตในกลุ่มเดียวกันแต่ความเข้มข้นต่างกัน (KN ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่ให้จำนวนยอดเพียง 0.6 ยอด มีเปอร์เซ็นต์ของกลุ่ม

คัลลัสที่พัฒนาไปเป็นยอด 10 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4; รูปที่ 5F และ 5G) ส่วนสูตรอื่นคือสูตรอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเติบโต (ชุดควบคุม), สูตรที่เติม BA เพียงอย่างเดียว และสูตรที่เติม KN ร่วมกับ 2,4-D ไม่มีการเกิดราก (ตารางที่ 4; รูปที่ 5A, 5I และ 5J)

นอกจากนี้ยังพบว่าคัลลัสพัฒนาเกิดรากในเวลา 4 สัปดาห์ที่เพาะเลี้ยง โดยอาหารสูตร MS ที่เติม KN ร่วมกับ NAA ให้จำนวนรากมากที่สุด ซึ่ง KN ความเข้มข้น 0.5 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดรากมากที่สุด 40 เปอร์เซ็นต์ จำนวนรากเฉลี่ย 2.8±6.82 และ 3.8±5.05 ราก ตามลำดับ (ตารางที่ 4, รูปที่ 4F, 4G) และยังพบว่าอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสาควบคุมการเติบโต และที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 หรือ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.3 หรือ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร กับ อาหารสูตร MS ที่เติม KN ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดราก 10 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนรากเฉลี่ยระหว่าง ราก 0±0.31 ถึง 0.2±0.63 ราก (ตารางที่ 4) ส่วนสูตรอื่น ๆ ไม่มีการเกิดราก

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ตารางที่ 4 ผลของสารควบคุมการเติบโต 2,4-D, BA, KN, IBA, NAA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัส เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

สารควบคุมการเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)						การเติบโตและการพัฒนาของคัลลัส					
						การเกิดยอด*				การเกิดราก	
BA	KN	2,4-D	IBA	NAA	IAA	%กลุ่มคัลลัสที่เกิดยอด	จำนวนยอด			%กลุ่มคัลลัสที่เกิดราก	จำนวนราก*
							ทั้งหมด	≤2.0 ม.ม.	>2.0 ม.ม.		
-	-	-	-	-	-	0	0.0±0.0^{c}	0.0±0.0^{c}	0.0±0.0^{a}	10	0.7±2.2^{b}
2.0	-	-	-	-	-	20	1.2±2.5^{bc}	1.2±2.5^{ab}	0.0±0.0^{a}	0	0.0±0.0^{c}
2.0	-	-	0.5	-	-	40	3.2±4.4^{abc}	3.2±4.5^{ab}	0.4±1.3^{a}	0	0.0±0.0^{c}
1.0	0.3	-	-	0.3	-	50	5.9±7.1^{a}	5.6±7.2^{a}	0.3±0.9^{a}	10	0.2±0.6^{c}
1.0	0.3	-	-	0.5	-	20	2.3±4.9^{abc}	2.3±4.9^{ab}	0.0±0.0^{a}	10	0.0±0.3^{c}
-	0.5	-	-	1.0	-	10	0.6±1.9^{c}	0.6±1.9^{c}	0.0±0.0^{a}	40	2.8±6.8^{ab}
-	2.0	-	-	1.0	-	30	5.6±9.9^{ab}	5.6±9.9^{a}	0.0±0.0^{a}	40	3.8±5.0^{a}
-	2.0	-	-	-	1.0	20	1.4±3.3^{bc}	1.4±3.3^{ab}	0.0±0.0^{a}	10	0.1±0.3^{c}
-	2.0	2.0	-	-	-	0	0.0±0.0^{c}	0.0±0.0^{c}	0.0±0.0^{a}	0	0.0±0.0^{c}
-	2.0	3.0	-	-	-	0	0.0±0.0^{c}	0.0±0.0^{c}	0.0±0.0^{a}	0	0.0±0.0^{c}

* ทำการทดลอง 10 ซ้ำ, ตัวเลข (ค่าเฉลี่ย ± SE) ที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (P≤0.05) วิเคราะห์โดยDMRT

ภาพที่ 4 ผลของสารควบคุมการเติบโต 2,4-D, BA, KN, IBA, NAA ในอาหารสูตร MS ต่อการชักนำการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัสเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (สเกล = 0.5 เซนติเมตร)

A) ปราศจากสารควบคุมการเติบโต (ชุดควบคุม)

B) BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

C) BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

D) BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + KN 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

E) BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + KN 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

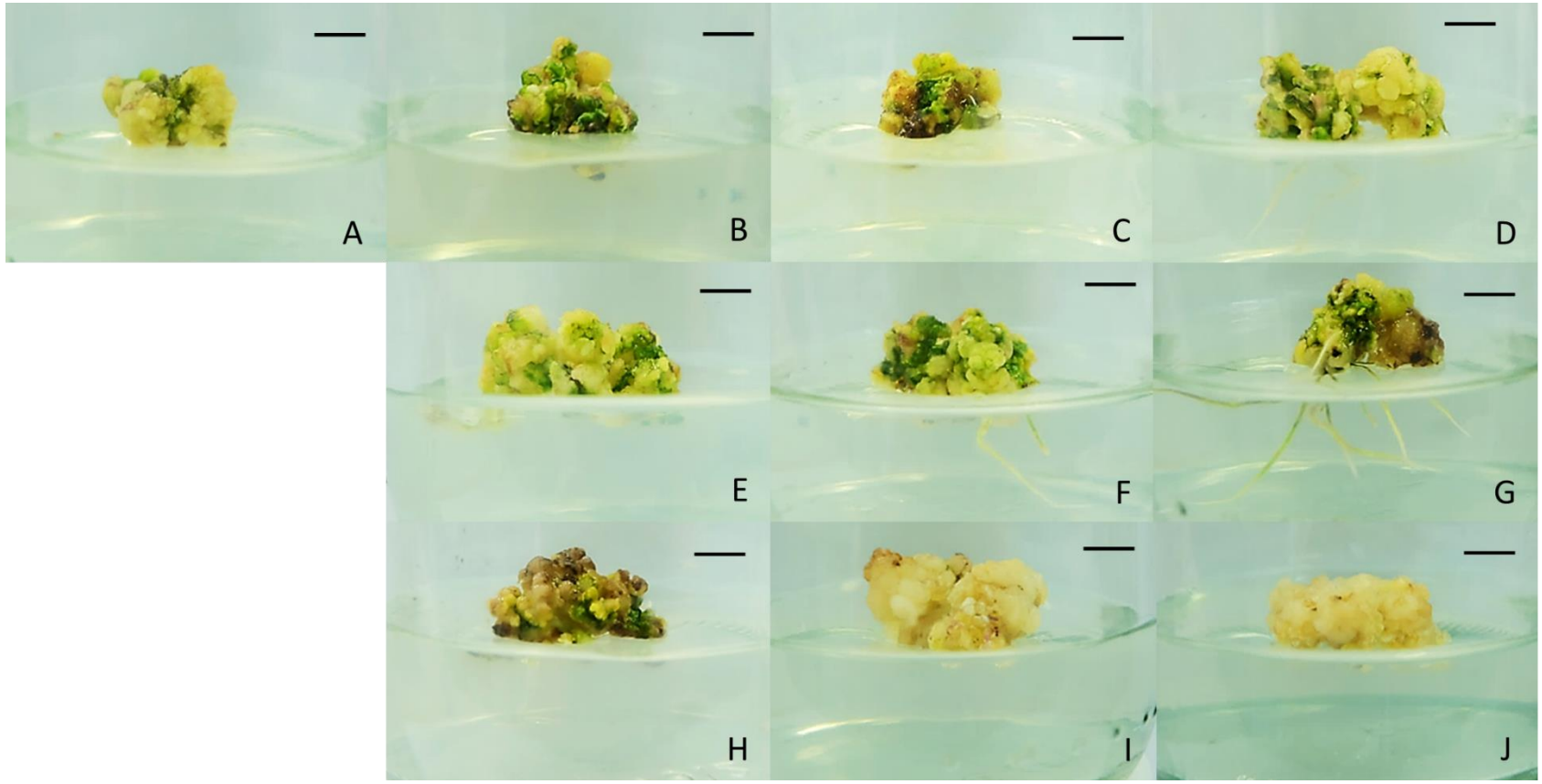
F) KN 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

G) KN 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

H) KN 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + IAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

I) KN 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + 2,4-D 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

J) KN 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + 2,4-D 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร


A
B
C
D
E
F
G
H
I
J

ภาพที่ 5 ผลของสารควบคุมการเติบโต 2,4-D, BA, KN, IBA, NAA ในอาหารสูตร MS ต่อการชักนำการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัสเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ (สเกล = 2.0 มิลลิเมตร)

A) ปราศจากสารควบคุมการเติบโต (ชุดควบคุม)

B) BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

C) BA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

D) BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + KN 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

E) BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + KN 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

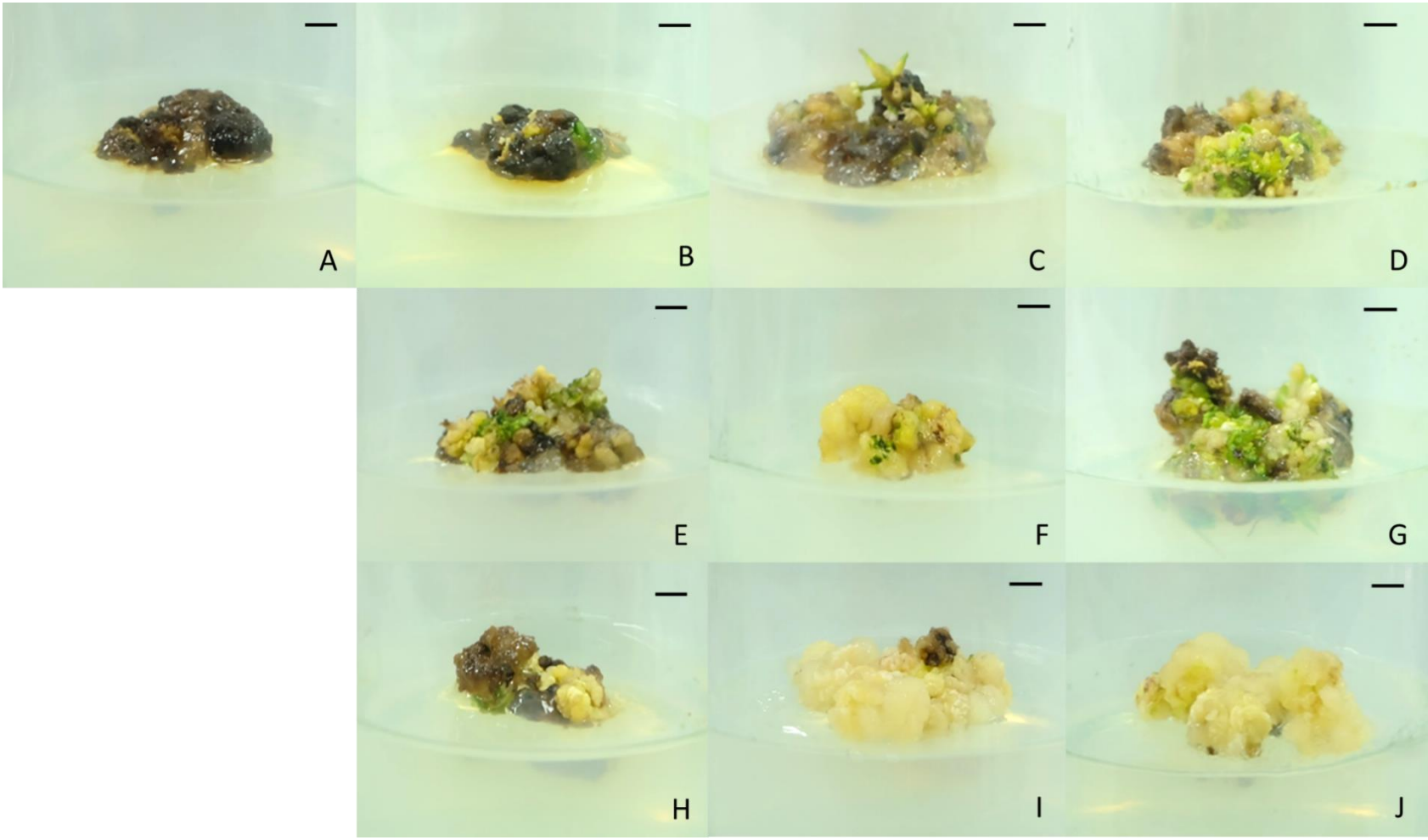
F) KN 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

G) KN 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

H) KN 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + IAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

I) KN 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + 2,4-D 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

J) KN 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + 2,4-D 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร


A
B
C
D
E
F
G
H
I
J

การทดลองที่ 5 **การศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโต** KN, BA **และ** NAA **ในอาหารกึ่งแข็งสูตร** MS **ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัสของไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี'**

นำกลุ่มคัลลัสแบบ compact ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.0 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง ที่เติมสารควบคุมการเติบโต NAA (0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) เพียงชนิดเดียว, BA (0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) ร่วมกับ NAA (0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ KN (0.5 หรือ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ร่วมกับ NAA (0.5 หรือ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ทุกสูตรเติม TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ adenine sulfate 40 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

จากการทดลองพบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงคัลลัสเป็นเวลา 4 สัปดาห์ อาหารสูตร MS ที่เติม BA หรือ KN ร่วมกับ NAA ให้การเกิดยอดจากคัลลัส และขนาดของคัลลัสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีเปอร์เซ็นต์ของกลุ่มคัลลัสที่เกิดยอด 30 – 40 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวนยอดในช่วง 5.6 – 14.0 ยอดต่อกลุ่มคัลลัส (ตารางที่ 5; 6C, 6D และ 6E) โดยอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดมากที่สุด 14.0 ยอด ยอดที่เกิดขึ้นมีสีเขียวเข้ม (รูปที่ 6D) ส่วนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอด 5.6 ยอด ลักษณะยอดมีสีขาวปนน้ำตาล (ตารางที่ 5, รูปที่ 6C) และอาหารที่เติม KN ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ยอดมีลักษณะฉ่ำน้ำ มีสีเขียว (รูปที่ 6E) สำหรับอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเติบโต และสูตรที่เติม NAA เพียงอย่างเดียวไม่มีการเกิดยอด (ตารางที่ 5, รูปที่ 6A, 6B)

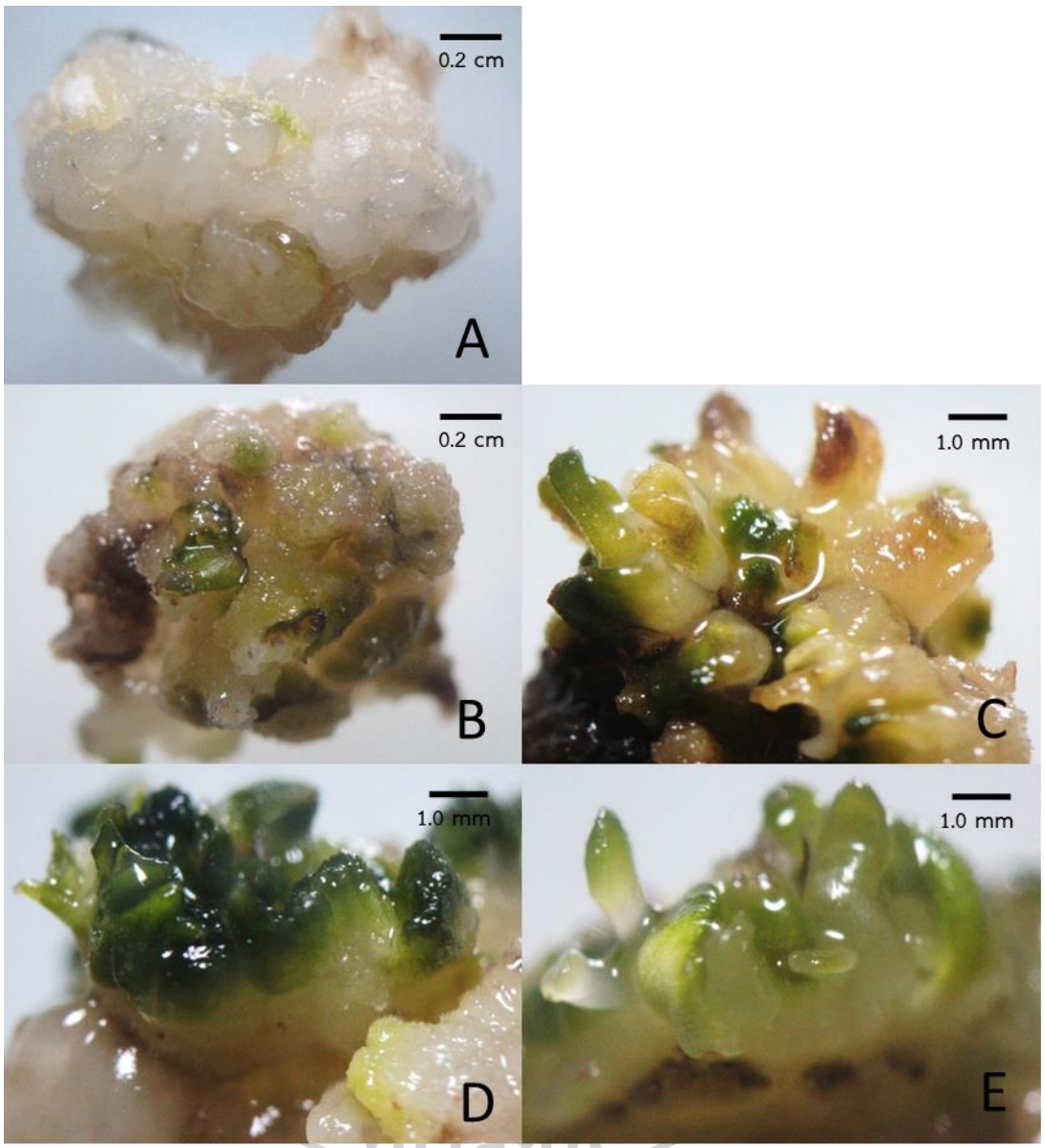
เมื่อเพาะเลี้ยงครบ 8 สัปดาห์ พบว่ากลุ่มคัลลัสมีการพัฒนาไปเป็นยอดในอาหารทุกสูตร ยกเว้นสูตรที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเติบโต และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดเพิ่มขึ้น โดยอาหารสูตรที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร คัลลัสมีการพัฒนาไปเป็นยอด 100 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวนยอดมากที่สุด 26.5 ยอด ซึ่งแตกต่างจากอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 5, รูปที่ 7D) รองลงมาคืออาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 70 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 16.5 ยอด (ตารางที่ 5, รูปที่ 7C) ส่วนสูตรที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดเพิ่มขึ้นเป็น 30 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.4 ยอด และสูตรที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 8.2 ยอด มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดเพิ่มขึ้นเป็น 50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5, รูปที่ 7B, 7E)

ตารางที่ 5 ผลของสารควบคุมการเติบโต BA, KN และ NAA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัส เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

สารควบคุมการเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)			การเติบโตและการพัฒนาของคัลลัส					
			4 สัปดาห์			8 สัปดาห์		
KN	BA	NAA	%กลุ่มคัลลัสที่เกิดยอด	จำนวนยอด*	ขนาดคัลลัส (เซนติเมตร)	%กลุ่มคัลลัสที่เกิดยอด	จำนวนยอด*	ขนาดคัลลัส (เซนติเมตร)
0	0	0	0	0.0±0.0	1.8±0.1^{a}	0	0.0±0.0^{c}	1.8±0.2^{a}
0	0	0.5	0	0.0± 0.0	1.9±0.1^{a}	30	1.4±0.8^{c}	2.0±0.2^{a}
0	0.5	0.3	30	5.6±2.9^{ab}	1.6±0.2^{a}	70	16.5±4.3^{b}	1.7±0.2^{a}
0.5	0	0.5	40	14.0±5.8^{a}	2.1±0.1^{a}	100	26.5±3.9^{a}	2.1±0.1^{a}
2.0	0	1.0	30	6.5±3.5^{ab}	1.7±0.2^{a}	50	8.2±3.4b^{c}	1.8±0.2^{a}

*ทำการทดลอง 10 ซ้ำ; ค่าเฉลี่ย ± SE ที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เปอร์เซ็นต์ ($P \leq 0.05$) วิเคราะห์โดย DMRT

มหาวิทยาลัยศิลปากร



ภาพที่ 6 ยอดที่เกิดจากกลุ่มคัลลัสบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเติบโต BA, KN และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

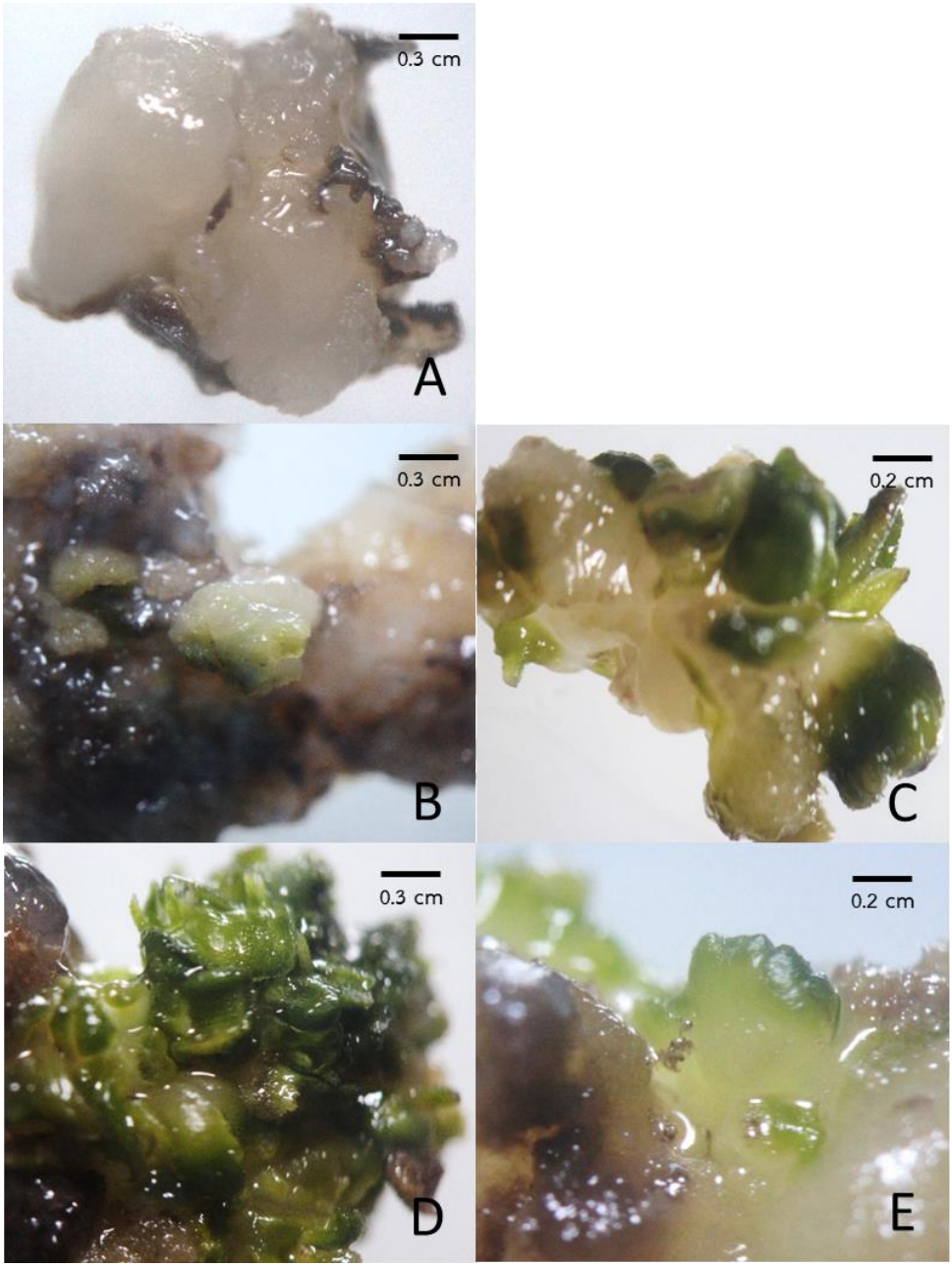
A) ปราศจากสารควบคุมการเติบโต (ชุดควบคุม)

B) NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

C) BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

D) KN 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

E) KN 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ 7 ยอดที่เกิดจากกลุ่มคัลลัสบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเติบโต BA, KN และ NAA ความเข้มข้นต่าง ๆ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์

A) ปราศจากสารควบคุมการเติบโต (ชุดควบคุม)

B) NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

C) BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

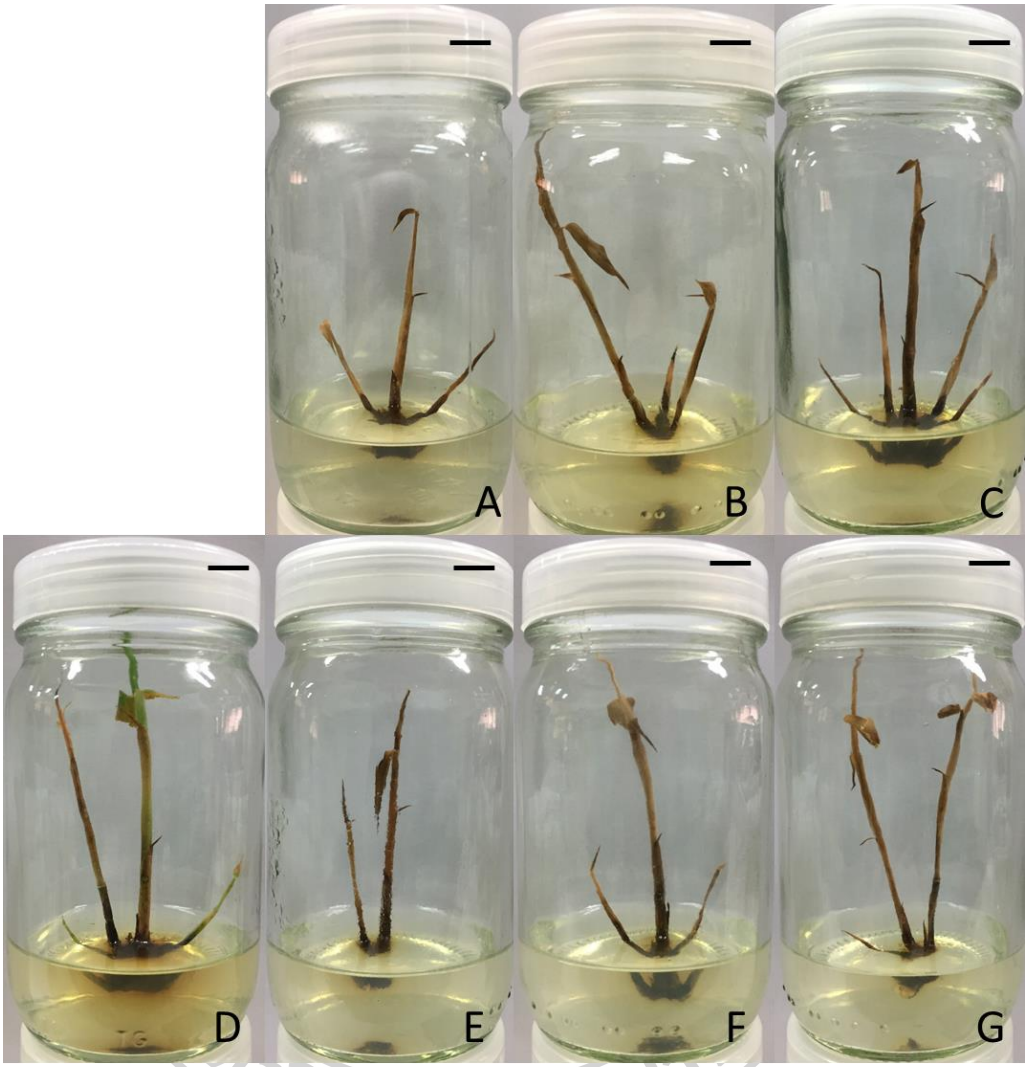
D) KN 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

E) KN 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

การทดลองที่ 6 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำกลุ่มยอดให้เกิดราก

จากการนำกลุ่มยอดที่ได้จากการชักนำให้เกิดยอดจากข้อ จำนวน 3 ยอดต่อกลุ่ม ที่ได้จากการทดลองที่ 1 เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเติบโต IBA ที่ความเข้มข้น 0.5-5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ที่ความเข้มข้น 0.7 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่ปราศจากสารควบคุมการเติบโต และอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเติบโตทุกสูตรไม่มีรากเกิดขึ้น ใน 2 สัปดาห์แรก กลุ่มยอดยังสีเขียว เมื่อเลี้ยงจนครบ 4 สัปดาห์ พบว่ากลุ่มยอดเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาล และตายลง และกลุ่มยอดมีการปล่อยสารฟีนอลิคในอาหารทุกสูตร ทำให้อาหารเป็นสีน้ำตาล (รูปที่ 8)

มหาวิทยาลัยศิลปากร



ภาพที่ 8 ผลของสารควบคุมการเติบโต IBA และ NAA ในอาหารสูตร MS ต่อชักนำให้เกิดรากจากกลุ่มยอดจากข้อ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ (สเกล = 0.3 เซนติเมตร)

A) ปราศจากสารควบคุมการเติบโต (ชุดควบคุม)

B) IBA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

C) IBA 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

D) IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

E) IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

F) IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

G) IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

การทดลองที่ 7 การศึกษาสารควบคุมการเติบโต IBA และ NAA ที่มีผลต่อการชักนำกลุ่มยอดให้เกิดราก

จากการทดลองที่ 6 ที่นำกลุ่มยอดที่ได้จากการชักนำให้เกิดยอดจากข้อ จำนวน 3 ยอดต่อกลุ่ม เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเติบโต IBA เพียงอย่างเดียว และ IBA ร่วมกับ NAA รวม 7 สูตร พบว่าในอาหารทุกสูตรไม่มีการเกิดราก และยอดตาย จึงได้ทำการทดลองเพิ่มเติม โดยนำกลุ่มยอดที่ได้จากการชักนำให้เกิดยอดจากข้อ จำนวน 3 ยอดต่อกลุ่ม เพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเติบโตทั้งชนิดและความเข้มข้นที่แตกต่างกันคือ IBA เพียงชนิดเดียวหรือร่วมกับ KN และ NAA เพียงชนิดเดียวหรือร่วมกับ KN รวม 8 สูตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ แล้วย้ายลงในอาหารเหลวสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเติบโต

จากการทดลองพบว่าอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม NAA เพียงอย่างเดียว ที่ความเข้มข้น 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ สามารถชักนำให้เกิดรากได้ เกิดราก 70 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนรากเฉลี่ย 2.1 และ 1.3 ยอด ตามลำดับ และมีความยาวรากเฉลี่ย 0.2 เซนติเมตร ลักษณะรากอ้วน สั้น มีสีขาว กลุ่มยอดมีสีเขียวเหลือง น้ำตาล (ตารางที่ 6, รูปที่ 9C, 9D) ส่วนอาหารสูตรอื่นๆ พบว่าไม่มีการเกิดราก และกลุ่มยอดมีสีเขียว (ตารางที่ 6 รูปที่ 9A, 9B, 9E, 9F) จากนั้นย้ายกลุ่มยอดในทุกสูตรลงไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเติบโต เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่ารากที่เกิดในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม NAA ที่ความเข้มข้น 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร รากยืดยาวขึ้น รากยาวและเรียว มีสีเขียว โดยมีความยาวรากเฉลี่ย 1.5 และ 1.0 เซนติเมตร (ตารางที่ 6, รูปที่ 10A, 10B) ส่วนสูตรอื่นไม่มีรากเกิดขึ้น และยอดตายลง

ตารางที่ 6 ผลของสารควบคุมการเติบโต BA, NAA และ KN ในอาหารสูตร MS ต่อการชักนำการชักนำให้เกิดรากจากกลุ่มยอดที่ได้จากส่วนข้อ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ และอาหารเหลวสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเติบโต เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์

สารควบคุมการเติบโต (มิลลิกรัมต่อลิตร)			การเติบโตและการพัฒนาของคัลลัส*					
			2 สัปดาห์**			2 สัปดาห์***		
IBA	NAA	KN	% การเกิดราก	จำนวนราก	ความยาวราก (เซนติเมตร)	% การเกิดราก	จำนวนราก	ความยาวราก (เซนติเมตร)
0	0	0	0	0.0±0.0^{b}	0.0±0.0^{b}	0	0.0±0.0^{b}	0.0±0.0^{b}
2.0	0	0	0	0.0±0.0^{b}	0.0±0.0^{b}	0	0.0±0.0^{b}	0.0±0.0^{b}
0	2.0	0	70	2.1±0.9^{a}	0.2±0.1^{a}	60	2.0±0.6^{a}	1.5±0.5^{a}
0	3.0	0	70	1.3±0.4^{a}	0.2±0.1^{a}	40	1.1±0.7^{ab}	1.0±0.6^{a}
0	1.0	2.0	0	0.0±0.0^{b}	0.0±0.0^{b}	0	0.0±0.0^{b}	0.0±0.0^{b}
1.0	0	2.0	0	0.0±0.0^{b}	0.0±0.0^{b}	0	0.0±0.0^{b}	0.0±0.0^{b}

*ทำการทดลอง 10 ซ้ำ; ค่าเฉลี่ย ± SE ที่กำกับด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เปอร์เซ็นต์ ($P \leq 0.05$) วิเคราะห์โดย DMRT

** อาหารกึ่งแข็ง

***อาหารเหลวที่ปราศจากสารควบคุมการเติบโต

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ภาพที่ 9 ผลของสารควบคุมการเติบโต BA, KN และ NAA ในอาหารสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดรากจากกลุ่มยอดจากข้อ เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ (สเกล = 0.2 เซนติเมตร)

A) ปราศจากสารควบคุมการเติบโต (ชุดควบคุม)

B) IBA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

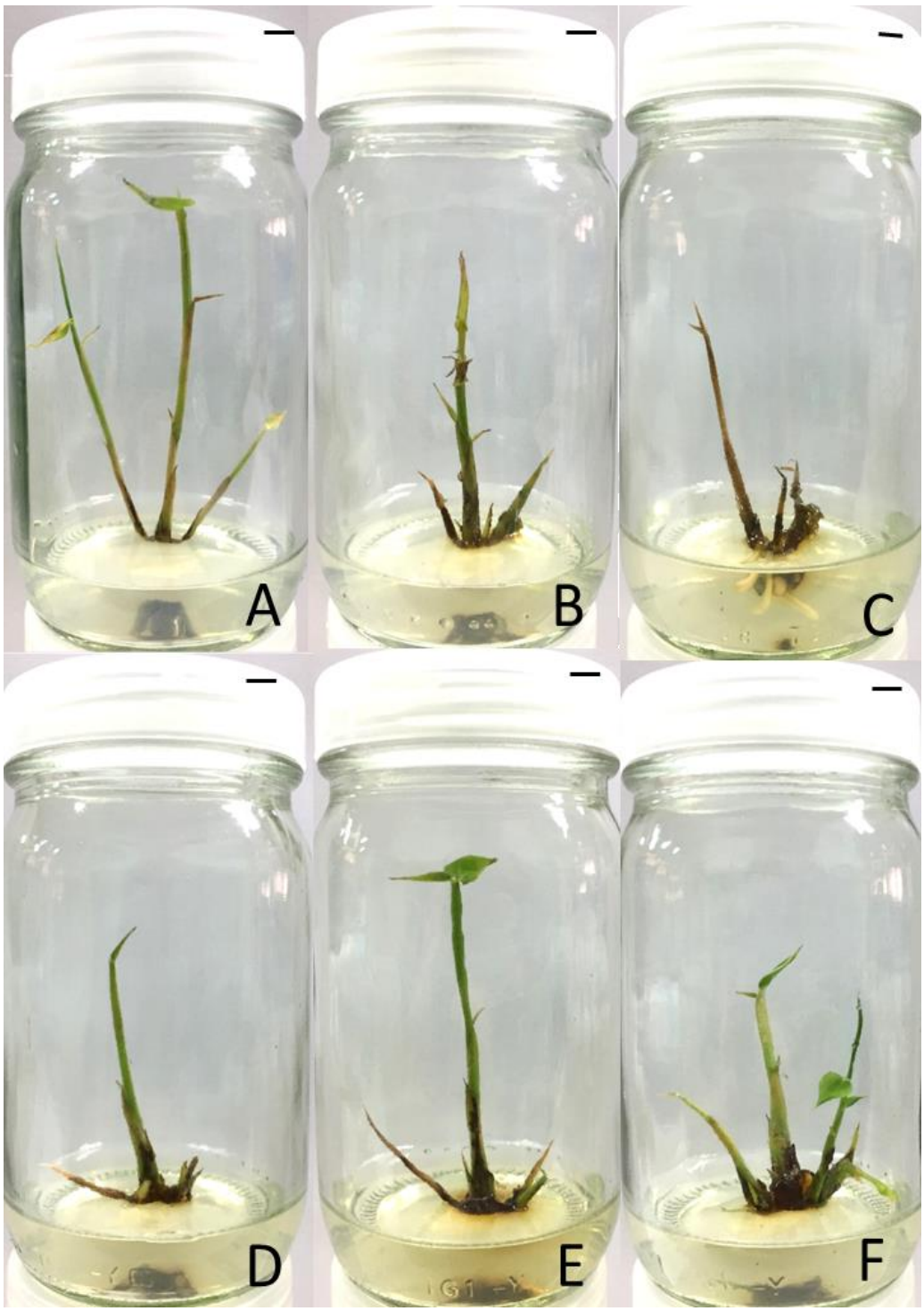
C) NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

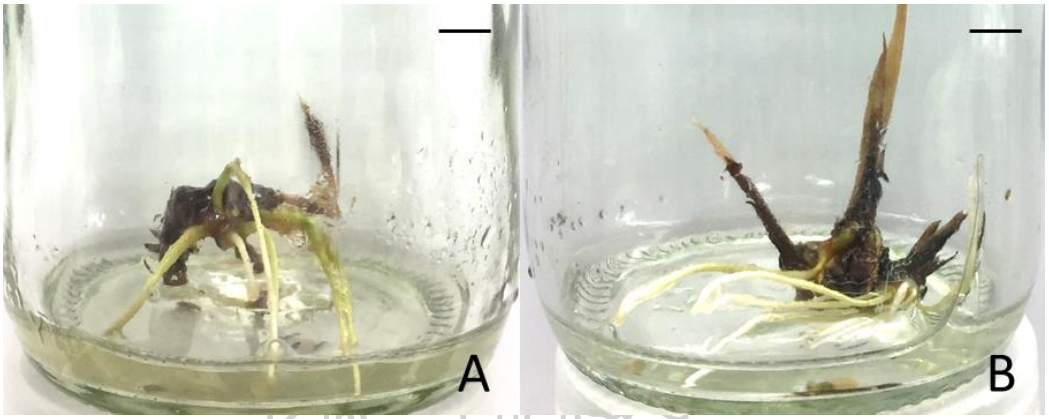
D) NAA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

E) NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + KN 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

F) IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + KN 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

มหาวิทยาลัยศิลปากร


A
B
C
D
E
F



ภาพที่ 10 ลักษณะรากที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงกลุ่มยอดในอาหารเหลวสูตร MS ที่ประกอบด้วย NAA 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2 สัปดาห์ แล้วย้ายลงอาหารเหลวสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเติบโต เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ (สเกล = 0.25 เซนติเมตร)

A) จากอาหารกึ่งแข็งสูตร MS + NAA 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

B) จากอาหารกึ่งแข็งสูตร MS + NAA 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลอง

การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อ

จากการศึกษาสารควบคุมการเติบโตในอาหารสูตร MS ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากตาที่ข้อของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ พบว่าเมื่อนำชิ้นส่วนข้อจากกิ่งแขนงมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ให้จำนวนยอดและความสูงของยอดมากที่สุด คือ 3.9 ยอด และ 3.92 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งเป็นสูตรที่เหมาะสมที่สุดในการนำไปชักนำให้เกิดคัลลัส เนื่องจากขนาดของยอดมีความสม่ำเสมอ ยอดมีสีเขียว เมื่อนำไปชักนำให้เกิดคัลลัส จะเกิดคัลลัสได้ดีกว่าสูตรอื่นๆ จากผลการทดลองในงานวิจัยนี้คล้ายกับงานวิจัยที่ศึกษาในไผ่ *Dendrocalamus* ได้แก่ *D. strictus* ซึ่งชักนำให้เกิดยอดจากตาที่ข้อบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเติบโต BAP เปรียบเทียบกับ KN พบว่าอาหารสูตรที่เติม BAP มีเปอร์เซ็นต์การยอดมากกว่า KN โดย BAP ที่ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดสูงที่สุด 92 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนยอดและความสูงมากที่สุด 4.6 ยอด และ 5.4 เซนติเมตร ตามลำดับ (Rajput et al., 2019) และในไผ่ *D.asper* พบว่าอาหารสูตรที่เติม BAP 3.0-5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับ KN (Shroti et al., 2012; Singh et al., 2012) นอกจากนี้ยังพบว่าคล้ายกับการทดลองในไผ่ชนิดอื่นๆด้วย ไดแก่ ไผ่ *Bambusa vulgalis* ที่ชักนำให้เกิดยอดจากชิ้นส่วนข้อ โดยเกิดยอดได้ดีที่สุดในอาหารสูตร MS ที่เติม BAP 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (Furlan et al., 2018) และการทดลองของอภิศักดิ์ (2549) ที่เพาะเลี้ยงตาที่ข้อของไผ่รวก (*T. siamensis*) บนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 13.50 ยอดต่อข้อ และมีความยาวยอดมากที่สุด 2.53 เซนติเมตร ซึ่งจากการทดลองการชักนำให้เกิดยอดจากข้อในไผ่ชนิดต่างๆ มีการรายงานว่า BAP ชักนำให้เกิดยอดได้ดีว่า KN (S. Arya et al., 2008; Kapruwan et al., 2014; Pandey & Singh, 2012; Rajput et al., 2019) เนื่องจาก BA เป็นฮอร์โมนในกลุ่มไซโตไคนิน ที่ทำหน้าส่งเสริมการแบ่งเซลล์ ขยายขนาดของเซลล์ และกระตุ้นการแตกของตาข้าง โดยไซโตไคนิน (Werner et al., 2003) และจากการทดลองเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BA ให้สูงขึ้น (4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร) ทำให้ความสูงของยอดลดลง ยอดที่ได้มีลักษณะสั้น มีสีเหลืองเขียว ใบแผ่กางออกเร็ว และเกิดการตายของยอดเมื่อทำการเพาะเลี้ยงนานขึ้น ซึ่งคล้ายกับผลการทดลองของ Singh และคณะ 2012 ที่พบว่าการให้ BA ที่ความเข้มข้นสูงขึ้น ทำให้ความยาวยอดสั้นลง ยอดมีสีเหลือง และยอดตายในเวลาต่อมา ซึ่ง BA ที่ความเข้มข้นสูงๆ ใบเหลือง และทำให้มีจำนวนรากน้อย หรืออาจจะไปกระตุ้นกระบวนการสร้างเอทธีลีน (Spokas et al., 2010)

การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากส่วนของยอดและขยายคัลลัส

จากการชักนำให้เกิดคัลลัสจากชิ้นส่วนยอดไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ขนาดของคัลลัสใหญ่ที่สุด โดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของคัลลัส 0.83 เซนติเมตร โดยให้คัลลัสแบบ compact ลักษณะคัลลัสเป็นกลุ่มเกาะกันแน่น ซึ่งลักษณะคัลลัสที่เหมาะสมต่อการนำไปชักนำให้เกิดยอด ได้แก่ ลักษณะแบบ compact เนื่องจากสามารถพัฒนาไปเป็นอวัยวะได้ดีกว่าแบบ mucilaginous และ friable ซึ่งคล้ายกับงานวิจัยที่ศึกษาในไผ่ *D. hamiltonii* พบว่าความเข้มข้นของ 2,4–D ที่เหมาะสมในการชักนำให้เกิดคัลลัสมากที่สุด คือ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อความเข้มข้นน้อยหรือมากเกินไปจะทำให้การเกิดคัลลัสน้อยลง และเมื่อเติม 2,4–D ร่วมกับ BA พบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดคัลลัสน้อยลงเมื่อเติม BA 1.0-4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรที่ไม่เติม BA (Zang et al., 2016) คล้ายกับผลการทดลองของ Devi และคณะ 2012 เพาะเลี้ยงเมล็ดของไผ่ *D. giganteus* เพื่อชักนำให้เกิดคัลลัส พบว่า 2,4–D ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดคัลลัสได้ดี 82.5 เปอร์เซ็นต์ และคัลลัสสามารถเกิดออกาโนเจเนซิสได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับที่เติม 2,4–D ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 0.2-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และการชักนำให้เกิดคัลลัสในไผ่รวก *T. siamenssis* พบว่าอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดคัลลัสได้ 90 เปอร์เซ็นต์ และมีขนาดเฉลี่ยมากที่สุด 0.54 เซนติมตร (อภิศักดิ์ ดวงมณี, 2549) อย่างไรก็ตามในการทดลองของ Hu และคณะ (2011) ทำการชักนำให้เกิดคัลลัสในไผ่ *D. farinosus* บนอาหารที่เติม 2,4,5-T ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดคัลลัส 96 และ 29.7 เปอร์เซ็นต์ ในเมล็ดและยอดตามลำดับ การชักนำให้เกิดคัลลัสส่วนใหญ่ใช้ 2,4–D เนื่องจาก 2,4–D เป็นสารควบคุมการเติบโตที่มีฤทธิ์เป็นออกซินในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 2,4–D ถูกนำมาใช้ในการชักนำให้เกิดคัลลัสและโซมาติกเอมบริโอ ซึ่งปริมาณของ 2,4–D มีผลต่อการเกิดคัลลัส และความเข้มข้นที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดของพืช โดย 2,4–D ชักนำให้เกิดการแบ่งเซลล์อย่างรวดเร็ว (Zang et al., 2016) โดย 2,4–D จะเข้าผ่านเซลล์ทาง Aux1 recepter ที่อยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ จากนั้นออกซินจะไปจับกับโปรตีนในกลุ่ม ARF ทำให้เกิดการแสดงออกของยีน Auxin response gene ที่ควบคุม cell cycle จึงมีการแบ่งเซล์เกิดขึ้น (Skupa et al., 2014) และในการทดลองนี้พบว่าอาหารในกลุ่มที่มี 2,4-D, KN และ IBA ส่วนใหญ่ให้คัลลัสแบบ compact และในกลุ่มอาหารที่ประกอบด้วย 2,4-D, BA และ NAA นั้น อาหารที่มี 2,4-D ความเข้มข้นต่ำ (2 และ 3 มิลิกรัมต่อลิตร) ให้คัลลัสแบบ compact เนื่องมาจากในอาหารทุกสูตรเติม glutamine ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร, proline ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อ

ลิตร และ casein hydrolysate ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร คล้ายกับผลการทดลอง Zang และคณะ 2016 ที่ชักนำให้เกิดคัลลัสจากปลายยอด โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2, 4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร, BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร, glutamine 500 มิลลิกรัมต่อลิตร, proline 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ casein hydrolysate 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลดีในการเกิดคัลลัสแบบ granular-compact เมื่อเปรียบเทียบกับที่เติมกรดอะมิโนเพียงเดี่ยวๆ ซึ่ง glutamine, proline และ casein hydrolysate เป็นกรดอะมิโนที่เป็นแหล่งให้ไนโตรเจน โดยไนเตรตและแอมโมเนียมไอออนเป็นแหล่งไนโตรเจนในรูปอนินทรีย์สารที่เป็นองค์ประกอบของอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยกรดอะมิโนจะให้ไนโตรเจนแก่พืชได้เร็วกกว่าจากสารอนินทรีย์ (Daniel et al., 2018)ซึ่งไนโตรเจนนำไปใช้ในการสังเคราะห์โปรตีน และกรดนิวคลิอิค มีความจำเป็นต่อการแบ่งตัวของเซล์ และเป็นองคประกอบที่สำคัญคลอโรฟลล ฮอรโมนบางชนิดและสารประกอบอื่นๆ (กสานติ์ หาญชนะ และปิยะพร แสนสุข, 2018) นอกจากนี้ยังพบว่ากรดอะมิโนเป็นสารที่ส่งเสริมการเติบโตของพืช โดยกรดอะมิโนที่อยู่ภายในพืชและในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีบทบาทสำคัญในการเกิดและพัฒนาของ somstic embyo (Ogita et al., 2001)

จากงานวิจัยนี้นำกลุ่มคัลลัสมาขยายเพื่อเพิ่มปริมาณคัลลัส พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณคัลลัสของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ คือ อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยกลุ่มคัลลัสที่มีการเติบโตถึง 70 เปอร์เซ็นต์ และคัลลัสขยายขนาดมากที่สุด ซึ่งแตกต่างจากสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยมีการขยายขนาดของคัลลัสเพิ่มขึ้น 0.94 เซนติเมตร แคลลัสมีลักษณะเป็นแบบ compact คล้ายกับผลการทดลองของ Zang และคณะ (2016) ที่ศึกษาไผ่ *Mniochloa abersend* โดยชักนำให้เกิดคัลลัสจากชิ้นส่วนยอดจากตาข้าง และขยายคัลลัสในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลงที่เติมสารควบคุมการเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.5-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว และร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 0.1-1 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร คัลลัสมีการขยายเพิ่มมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับ 2,4-D ที่ร่วมกับ BA พบว่าทำให้คัลลัสมีสีน้ำตาล และเมื่อความเข้นข้นของ 2,4-D เพิ่มขึ้นทำให้การขยายคัลลัสลดลงเนื่องจาก 2,4-D ที่ความเข้มข้นสูงๆ อาจทำให้อาหารมีความเป็นกรดเพิ่มมากขึ้นจึงเป็นพิษกับเนื้อเยื่อ ทำให้เนื้อเยื่อมีสีน้ำตาล และตายลง (Campanoni & Nick, 2005) ไม่สอดคล้องกับงานวิจัยที่ชักนำให้เกิดคัลลัสและขยายคัลลัสในไผ่ *Drepanostachyum luodianense* คัลลัสที่นำมาขยายมีสีเหลือง และมีลักษณะแบบ compact พบว่ามีการขยายเพิ่มขึ้น 73.3 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร คัลลัสที่ได้ส่วนใหญ่เกิดโซมาติกเอมบริโอและเจริญพัฒนาไปเป็นยอดต่อไปได้ดี (Lin et al., 2018) และในไผ่เหมาจู๋ หรือไผ่ Moso [*Phyllostachys heterocycla* var. pubescens (Mazel ex J.

Houz.) Ohwi] มีการชักนำให้เกิด embryogenic callus จาก zygotic embryo ในเมล็ดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2, 4-D 4.0มิลลิกรัมต่อลิตร และ zeatin (ZT) 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย 50 เปอร์เซ็นต์ ของชิ้นส่วนพืชเกิดคัลลัส จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณคัลลัสบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2, 4-D ความเข้มข้น 0.5-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ zeatin (ZT) 0.1 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำคัลลัสให้เกิด somatic embryos และยอด บนอาหารที่ประกอบด้วย ZT 5.0–7.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการทดลองนี้ใช้สารควบคุมการเติบโตออกซินร่วมกับไซโตไคนินเพื่อชักนำให้เกิดคัลลัล เนื่องจากออกซินจะส่งเสริมการแบ่งตัวของเซลล์ โดยกระตุ้นการสร้างโปรตีนและกรดนิวคลิอิค ซึ่งพบว่าเมื่อมีการเติมออกซินในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีการสังเคราะห์ RNA เกิดขึ้น และ ไซโตไคนินมีบทบาทในการส่งเสริมการแบ่งเซลล์โดยกระตุ้นการสังเคราะห์โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเซล์และไซโทพลาสซึม (Rodriguez et al., 2014) และในการทดลองนี้ในอาหารทุกสูตรเติม polyvinylpyrolidone (PVP) ซึ่งเป็นสาร antioxidants ที่ช่วยลดสารฟีนอลิคที่พืชสร้างขึ้น และส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (Lin et al., 2012)

การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัส

สำหรับการชักนำให้เกิดยอดจากคัลลัส พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร คัลลัสมีการเจริญพัฒนาไปเป็นเยอดมากที่สุด 50 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอดเฉลี่ย 6.0 เซนติเมตร ซึ่งคล้ายกับผลการทดลองในไผ่สกุล *Dendrpcalamus* ได้แก่ ในไผ่ *D. hamiltonii* ที่นำคัลลัสแบบ compact มาชักนำให้เกิดยอด พบว่าอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดมากที่สุด 51.65 เปอร์เซ็นต์ คัลลัสมีสีเหลืองเขียว คัลลัสพัฒนาไปเป็นยอดและยอดยืดยาวขึ้น ยอดมีความแข็งแรง ซึ่งเมื่อความเข้มข้นของ BA สูงขึ้นเรื่อยๆ จะไปยั้งยั้งการเจริญเติบโตของพืช และ KT ที่ความเข้มต่ำๆจะชักนำให้เกิดยอดได้ดี แต่ถ้าความเข้มข้นสูงๆ จะทำให้พืชเกิดฟีนอลิก และต้นพืชอ่อนแอ ไม่แข็งแรง (Zang et al., 2016) ส่วนในไผ่ซาง *D. strictus Nees* ทำการชักนำให้เกิดคัลลัสจากการเพาะเลี้ยงเมล็ดของ บนอาหารสูตร MS ที่เติม 2, 4-D 6.6 มิลลิกรัมต่อลิตร KN 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ polyvinylpyrrolidone (PVP) 250 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดยอด 2-5 เท่า ทุก ๆ 5 สัปดาห์ (Saxena & Dhawan, 1999) นอกจากนี้จากการทดลองในงานวิจัยนี้พบว่า KN ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดสูงถึง 5.6 ยอด ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารสูตรที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งการชักนำให้เกิดยอดจากคัลลัส

พบว่าเนื้อเยื่อต้องการทั้งไซโตไคนินและออกซินที่ความเข้มข้นสูงๆ โดยไซโตไคนินจากภายนอกจะกระตุ้นให้เนื้อเยื่อเกิดการสะสมของออกซินในคัลลัสเพื่อชักนำให้เกิดยอด (Kakani et al., 2009) ซึ่งคล้ายกับการทดลองของ Devi และคณะ(2012) ในไผ่ *D. giganteus* Munro เมื่อนำคัลลัสมาเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม KN ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดมากที่สุด 12 ยอด เกิดยอดมากกว่าเมื่อเปรียบทียบกับอาหารสูตรที่เติม BAP ที่ร่วมกับ NAA พบว่ามีการเกิดยอดเพียง 4.3 ยอด ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 40 วัน ซึ่งพบว่า NAA ร่วมกับ ไซโตไคนิน จะชักนำให้เกิดยอดจากคัลลัส ซึ่งคล้ายกับการทดลองที่พบว่า BAP หรือ KN สามารถชักนำให้เกิดยอดจากคัลลัสได้ (Ramanayake & Wanniarachchi, 2003) แต่แตกต่างกับการทดลองของ Hu et al., 2011 ที่ชักนำคัลลัสให้เกิดยอดไผ่ *D. farinosus* บนอาหารสูตร MS ที่เติม KN 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดยอด 91.2 เปอร์เซ็นต์ ได้จำนวนยอด 6.34 ยอดต่อกลุ่มคัลลัส ยอดมีความยาว 5.36 เซนติเมตร นอกจากนี้ในไผ่สกุลอื่นๆ ได้แก่ไผ่ทอง (*Schizostachyum brachyandum*) และไผ่สีสุก (*B. blumeana*) พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BAP ร่วมกับ NAA สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ (สุธิดา ฉันทานุรักษ์, 2534) ส่วนการเพาะเลี้ยงไผ่ *Mniochloa abersend* โดยย้ายคัลลัสลงเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA หรือ KT ร่วมกับ NAA พบว่าคัลลัสสามารถพัฒนาเป็นยอดในอาหารทุกสูตร แต่ในอาหาสูตรที่เติม KT ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดจำนวนยอดเฉลี่ย 25 ยอด แตกต่างจากสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ (Zang et al., 2016)

จากการทดลองในงานวิจัยนี้ ยอดที่ได้จากคัลลัสมีขนาดเล็ก ไม่มีการยืดยาว ยอดไม่แข็งแรง จึงทำการศึกษาเพิ่มเติม โดยนำคัลลัสมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเติบโต BA หรือ KN ร่วมกับ NAA ซึ่งอาหารทุกสูตรเติม TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ adenine sulfate 40 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเติบโต KN 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดคัลลัส 100 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนยอดมากที่สุด 26.5 ยอด คัลลัสมีการพัฒนาไปเป็นยอดภายใน 4 สัปดาห์ ยอดที่ได้จากคัลลัสมีความแข็งแรง มีจำนวนยอดเฉลี่ยเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับผลการทดลองในไผ่ *D. latiflorus* Munro พบว่าอาหารสูตรที่เติมสารควบคุมการเติบโต TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว และ TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การเกิดยอดมากที่สุด 50 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าเมื่อนำ TDZ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BAP 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ยอดที่ได้มีคุณภาพและจำนวนมากกว่า เมื่อเทียบกับ อาหารสูตรที่เติม TDZ เพียงอย่างเดียว (Ye et al., 2017) ซึ่งคล้ายกับผลในการทดลองครั้งนี้ เมื่อเติม TDZ ร่วมกับ ไซโตไคนินตัวอื่นๆ ได้แก่ BA หรือ KN ช่วยให้คัลลัสเกิดจำนวนยอดเพิ่มขึ้น และยอดมีสีเขียว

แข็งแรง แต่เป็นยอดขนาดเล็ก ยอดไม่ยืดยาว เนื่องจาก TDZ เป็นสารในกลุ่ม Phenyluea ที่มีฤทธิ์เป็นสารควบคุมการเติบโตของพืชออก ซึ่งออกฤทธิ์คล้ายกับไซโตไคนิน มีบทบาทในการส่งเสริมการแบ่งตัวของเซลล์และการเกิดยอดเมื่อใช้ที่ความเข้มข้นต่ำๆ แต่ถ้าความเข้มข้นสูงๆ จะส่งผลให้ยอดไม่ยืดยาว (Singh et al., 2012; พีรเดช ทองอำไพ, 2019) และสามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมาก การใช้ TDZ ร่วมกับไซโตไคนินตัวอื่นๆ สามารถชักนำให้เกิดยอดได้มากกว่าการใช้เพียงอย่างเดียว เนื่องจาก TDZ มีผลต่อแมตาบอลิซึมของไซโตไคนินภายในพืช ทำให้เนื้อเยื่อพืชสร้างไซโตไคนิน (วราภรณ์ อำพันกาญจน์, 2009) และจากการทดลองพบว่าคัลลัสมีการพัฒนาไปเป็นยอดแต่ยอดไม่ยืดยาว อย่างเช่นในการขยายพันธุ์ของละหุ่ง พบว่ามีการชักนำให้เกิดยอดในอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเติบโต BA แต่ยอดไม่ยืดยาวจึงนำ GA_3 ความเข้มข้น 0.1–1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ที่ความเข้มข้น 0.2–0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า GA_3 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ยอดยืดยาวขึ้นแต่จะยับยั้งการเพิ่มจำนวนยอด จึงต้องย้ายลงในอาหารสูตรที่เติม BA เพื่อเพิ่มจำนวนยอด (Sujatha & Reddy, 1998) เนื่องจากจิบเบอเรลลินส่งเสริมการยืดยาวของพืช โดยกระตุนการเจริญเติบโตทั้งการยืดตัวของเซลล์และการแบ่งเซลล์ โดยมีผลต่อการแบ่งเซลล์แบบ mitosis ทำให้ระยะ interphase สั้นลง และชักนำให้เซลล์ในระยะ G_1 สร้าง DNA (เฉลิมชัย วงศ์วัฒนะ, 2548)

การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดรากจากกลุ่มยอด

นำกลุ่มยอดจำนวน 3 กลุ่มยอดจากชิ้นส่วนข้อ มาชักนำให้เกิดราก พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเติบโต NAA ที่ความเข้มข้น 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดราก 70 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวนรากเฉลี่ย 2.1 และ 1.3 ยอด ตามลำดับ ลักษณะรากอ้วน สั้น มีสีขาว กลุ่มยอดมีสีเขียวเหลือง เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นย้ายลงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเติบโต เป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่ารากยืดยาวขึ้น รากยาวและเรียว ให้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยในไผ่ *Dendrocalamus asper* พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ที่ความเข้มข้น 16 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดรากได้ 98 เปอร์เซ็นต์ (Arya et al., 2008) เช่นเดียวกับ ไผ่ *Drepanostachyum luodianense* ชักนำให้เกิดรากในอาหารที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดราก 100 เปอร์เซ็นต์ (Lin et al. 2018) เละการทดลองของ Wei และคณะ 2015 เปรียบเทียบสารควบคุมการเติบโต NAA IBA และ BA ในการชักนำให้เกิดรากในไผ่ *Bambusa ventricosa* พบว่า NAA ที่ความเข้มข้น 2.7 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 4.9 ไมโครโมลาร์ และ BA ความเข้มข้น 4.4 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้เกิดรากได้ 70 เปอร์เซ็นต์ โดย NAA มีประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิดรากได้ดีกว่า IBA และ BA จากการทดลองในงานวิจัยนี้ พบว่า NAA ความเข้มข้นสูงๆ จะกระตุ้นการเกิดรากได้เมื่อเปรียบเทียบกับ NAA ที่ความเข้มข้นต่ำกว่าแต่ทำ ให้ยอดตาย ลักษณะรากอ้วน สั้น มีสีขาว และ

พบว่าเมื่อย้ายลงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเติบโต รากยืดยาวขึ้น เนื่องจาก NAA เป็นสารในกลุ่มออกซินที่มีฤทธิ์ในการชักนำให้เกิดราก ซึ่งออกซินจะกระตุ้นการเกิดรากและการพัฒนาของรากในระยะแรก และมีผลยับยั้งการยืดตัวของราก ดังนั้นในระยะหลังการเกิดรากจึงต้องการปริมาณออกซินที่ความเข้มข้นที่ต่ำๆ (เฉลิมชัย วงศ์วัฒนะ, 2548) อาจจะกระตุ้นให้เนื้อเยื่อเกิดการสร้างเอทธีลีน และสารในกลุ่มฟีนอลิค ซึ่งมีผลยับยั้งการเจริญของยอด (George et al., 2008) การชักนำให้เกิดรากต้องการสารในกุลุ่มออกซินที่แตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับชนิดของไผ่ (Agnihotri & Nandi, 2009) ดังเช่นในไผ่ *Dendrocalamus hamiltonii* ชักนำให้เกิดรากในอาหารสูตร MS ที่เติม KT และ NAA พบว่า IBA สามารถชักนำให้เกิดรากมากที่สุด 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับ KT และ NAA (Zang, 2016) และ ไผ่ *Drepanostachyum falcatum* ชักนำให้เกิดราก ในอาหารที่เติมสารควบคุมการเติบโต IBA ความเข้มข้น 6.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (Saini et al., 2016)

มหาวิทยาลัยศิลปากร

บทที่ 6
สรุปผลการศึกษา

การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อ

ชิ้นส่วนข้อจากกิ่งแขนง เพาะเลี้ยงในอาหารทุกสูตรไม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $P \leq 0.05$ มีจำนวนยอดเฉลี่ย 2.4 – 3.9 ยอด อาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเติบโต BA ที่ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดเฉลี่ยและความสูงเฉลี่ยมากที่สุด 3.9 ยอดต่อข้อ และ 3.40 เซนติเมตร ตามลำดับ และอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเติบโต BA ความเข้มข้นที่สูงขึ้นถึง 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความสูงของยอดลดลง โดยมีความสูงเฉลี่ย 2.5 และ 1.93 เซนติเมตร ตามลำดับ และให้จำนวนยอดลดลง 3.1 และ 2.5 ยอดต่อข้อ ตามลำดับ ส่วนในอาหารสูตรที่ไม่เติมสารควบคุมการเติบโตให้ความสูงเฉลี่ยของยอดและจำนวนยอดเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ 1.68 เซนติเมตร และ 2.4 ยอดต่อข้อ ตามลำดับ

การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากส่วนของยอด

ชิ้นส่วนยอดเกิดคัลลัสอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ขนาดของคัลลัสมากที่สุดโดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางของคัลลัส 0.83 และ 0.80 เซนติเมตร โดยให้คัลลัสแบบ compact และ friable ตามลำดับ โดยให้ขนาดของคัลลัสที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) กับอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D, KN และ IBA (3.0, 0.5 และ 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ) และอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D, BA และ NAA (5.0, 1.0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ) โดยให้ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางคัลลัสเท่ากันคือ 0.67 เซนติเมตร โดยให้คัลลัสแบบ compact และ mucilaginous ตามลำดับ

การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการขยายกลุ่มคัลลัส

คัลลัสมีการเจริญเติบโตบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีกลุ่มคัลลัสที่มีการเติบโตถึง 70 เปอร์เซ็นต์ และคัลลัสขยายขนาดมากที่สุด ซึ่งแตกต่างจากสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยมีการขยายขนาดของคัลลัสเพิ่มขึ้น 0.94 เซนติเมตร แคลลัสที่ได้มีลักษณะเป็นแบบ compact อาหารสูตรอื่นที่ให้คัลลัสแบบ compact คือ อาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 6.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 5.0 หรือ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีกลุ่มคัลลัสที่มีการเติบโตในช่วง 40 – 70 เปอร์เซ็นต์ และมีการขยายขนาดของคัลลัสที่เพิ่มขึ้น 0.11 – 0.44 เซนติเมตร

การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัส

การเพาะเลี้ยงครบ 12 สัปดาห์ พบว่าคัลลัสมีการพัฒนาไปเป็นยอด ในอาหารสูตร MS เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ KN ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยกลุ่มคัลลัสมีการเจริญพัฒนาไปเป็นยอด 50 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 5.9±7.1 เซนติเมตร ยอดที่มีขนาดน้อยกว่า 2 มิลลิเมตร มีจำนวน 5.6 ยอด และยอดที่มีขนาดมากกว่า 2 มิลลิเมตร มีจำนวน 0.3 ยอด ซึ่งให้จำนวนยอดทั้งหมดไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารสูตร MS ที่เติม KN ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งให้เปอร์เซ็นต์ของกลุมคัลลัสที่เกิดยอด 30 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนยอดเฉลี่ย 5.6 เซนติเมตร

การศึกษาผลของสารควบคุมการเติบโต KN, BA และ NAA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS **ต่อการชักนำให้เกิดยอดจากกลุ่มคัลลัสของไผ่ซางหม่น 'นวลราชินี'**

เมื่อเพาะเลี้ยงครบ 8 สัปดาห์ พบว่าคัลลัสมีการพัฒนาไปเป็นยอดในอาหารทุกสูตรยกเว้นสูตรที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเติบโต และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดเพิ่มขึ้น โดยอาหารสูตรที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร คัลลัสมีการพัฒนาไปเป็นยอด 100 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 26.5 ยอดต่อคัลลัส ซึ่งแตกต่างจากอาหารสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ รองลงมาคืออาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 70 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 16.5 ยอด ส่วนสูตรที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดเพิ่มขึ้นเป็น 30 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนยอดเฉลี่ย 1.4 ยอด และสูตรที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดเฉลี่ย 8.2 ยอด มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอด 50 เปอร์เซ็นต์

การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำยอดให้เกิดราก

กลุ่มยอดจำนวน 3 ยอดต่อกลุ่ม เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA เพียงอย่างเดียว ที่ความเข้มข้น 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดรากได้ เกิดราก 70 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนรากเฉลี่ย 2.1 และ 1.3 ยอด ตามลำดับ และมีความยาวรากเฉลี่ย 0.2 เซนติเมตร จากนั้นย้ายลงไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเติบโต เพาะเลี้ยงประมาณ 2 สัปดาห์ พบว่ารากยืดยาวขึ้น รากยาวและเรียว มีสีเขียว โดยมีความยาวรากเฉลี่ย 1.5 และ 1.0 เซนติเมตร ส่วนสูตรอื่นไม่มีรากเกิดขึ้น พบว่าเมื่อเลี้ยงกลุ่มยอดใน 2 สัปดาห์แรก กลุ่มยอดมีสีเขียวเหลือง และเมื่อเลี้ยงต่อไปอีก 2 สัปดาห์ ยอดตายลง

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนจากการฟอกฆ่าเชื้อของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’

ปีพ.ศ.	เดือน	เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน
2560	สิงหาคม	17%
	กันยายน	62%
	ตุลาคม	45%
	พฤศจิกายน	28%
	ธันวาคม	34%
2561	กุมภาพันธ์	30%
	ตุลาคม	92%
	พฤศจิกายน	18%
	ธันวาคม	12%

มหาวิทยาลัยศิลปากร

มหาวิทยาลัยศิลปากร

รายการอ้างอิง

Agnihotri, R. K., & Nandi, S. K. (2009). In vitro shoot cut: A high frequency multiplication and rooting method in the bamboo *Dendrocalamus hamiltonii*. *Biotechnology,* 8(2), 259-263.

Arya, I., & Arya, S. (2015). In vitro shoot proliferation and Somatic Embryogenesis: Means of Rapid Bamboo multiplication. Paper presented at the 10th world bamboo congress, Korea.

Arya, S., Satsangi, R., & Arya, I. (2008). Direct regeneration of shoots from immature inflorescences in *Dendrocalamus asper* (edible bamboo) leading to mass propagation. *Bamboo Science & Culture,* 21(1).

Bag, N., Palni, L. M. S., Chandra, S., & Nandi, S. K. (2012). Somatic embryogenesis in 'Maggar'bamboo (*Dendrocalamus hamiltonii*) and field performance of regenerated plants. *Curr Sci,* 102, 1279-1287.

Benton, A. (2015). Priority species of bamboo. In *Bamboo* (Vol. 4, pp. 31-41): Springer.

Campanoni, P., & Nick, P. (2005). Auxin-dependent cell division and cell elongation. 1-Naphthaleneacetic acid and 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid activate different pathways. *Plant Physiology,* 137(3), 939-948.

Chang, W. (1991). Bamboo. In *In: Bajaja YSP (ed) Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Berlin: Springer Verlag.

Chaomao, H. (1990). STUDIES ON THE NATURAL COMMUNITY OF *DENDROCALAMUS MEMBRANACEUS* MUNRO [J]. *Journal of Bamboo Research,* 4.

Chaturvedi, H., Sharma, M., & Sharma, A. (1993). In vitro regeneration of *Dendrocalamus strictus* Nees through nodal segments taken from field-grown culms. *Plant science,* 91(1), 97-101.

Cheah, K. T., & Chaille, L. C. (2011). Somatic embryogenesis from mature *Bambusa ventricosa.*

Daniel, M. A., David, R. H. A., Caesar, S. A., Ramakrishnan, M., Duraipandiyan, V., Ignacimuthu, S., & Al-Dhabi, N. (2018). Effect of l-glutamine and casein hydrolysate in the development of somatic embryos from cotyledonary leaf

explants in okra (*Abelmoschus esculentus* L. monech). *South African Journal of Botany,* 114, 223-231.

Devi, W. S., Bengyella, L., & Sharma, G. (2012). In vitro seed germination and micropropagation of edible bamboo *Dendrocalamus giganteus* Munro using seeds. *Biotechnol,* 11, 74-80.

El Hassan, A. A., & Debergh, P. (1987). Embryogenesis and plantlet development in the bamboo *Phyllostachys viridis* (Young) McClure. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture,* 10(1), 73-77.

Furlan, F. C., Gavilan, N. H., Zorz, A. Z., de Oliveira, L. S., Konzen, E. R., & Brondani, G. E. (2018). Active chlorine and charcoal affect the in vitro culture of *Bambusa vulgaris*. *Oficina de la Revista: Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Forestales y Recursos Naturales, Valdivia, Chile.,* 39(1-2018), 61-70.

George, E. F., Hall, M. A., & De Klerk, G.-J. (2008). Plant Growth Regulators III: Gibberellins, Ethylene, Abscisic Acid, their Analogues and Inhibitors; Miscellaneous Compounds. In *Plant propagation by tissue culture* (pp. 227-281): Springer.

Gielis, J., Woods, J. E., Woods, S. H., & Oprins, J. (2004). Micropropagation, synthetic seeds and germplasm storage of bamboos. In: Google Patents.

Gillis, K., Gielis, J., Peeters, H., Dhooghe, E., & Oprins, J. (2007). Somatic embryogenesis from mature *Bambusa balcooa* Roxburgh as basis for mass production of elite forestry bamboos. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture,* 91(2), 115-123.

Hu, S., Zhou, J., Cao, Y., Lu, X., Duan, N., Ren, P., & Chen, K. (2001). In vitro callus induction and plant regeneration from mature seed embryo and young shoots in a giant sympodial bamboo, *Dendrocalamus farinosus* (Keng et Keng f.) Chia et H.L. *African Journal of Biotechnology,* 10(16), 3210-3215. doi:10.5897/AJB10.2014

Huang, L.-C., & Murashige, T. (1983). Tissue culture investigations of bamboo. *Bot Bull Acad Sin,* 24, 31-52.

John, C., & Nadgauda, R. S. (1999). Review in vitro-induced flowering in bamboos. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant,* 35(4), 309-315.

Kakani, A., Li, G., & Peng, Z. (2009). Role of AUX1 in the control of organ identity during in vitro organogenesis and in mediating tissue specific auxin and cytokinin interaction in Arabidopsis. *Planta,* 229(3), 645-657.

Kapruwan, S., Bakshi, M., & Kaur, M. (2014). Effect of growth regulators on the in vitro multiplication of *Dendrocalamus Hamiltonii*. *Int J Eng Res Appl,* 1(4), 83-86.

Lin, C.S., & Chang, W. (1998). Micropropagation of *Bambusa edulis* through nodal explants of field-grown culms and flowering of regenerated plantlets. *Plant cell reports,* 17(8), 617-620.

Lin, C. S., Lin, C. C., & Chang, W. C. (2003). In vitro flowering of *Bambusa edulis* and subsequent plantlet survival. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture,* 72(1), 71-78.

Lin, S., Liu, G., Guo, T., Zhang, L., Wang, S., & Ding, Y. (2018). Shoot proliferation and callus regeneration from nodular buds of *Drepanostachyum luodianense*. *Journal of Forestry Research*, 1-9.

Lloyd, G., & McCown, B. (1980). Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, Kalmia latifolia, by use of shoot-tip culture. *Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, Kalmia latifolia, by use of shoot-tip culture.,* 30, 421-427.

Mehta, U., Ramanuja Rao, I., & Mohan Ram, H. (1982). *Somatic embryogenesis in bamboo.* Paper presented at the Plant tissue culture 1982: proceedings, 5th International Congress of Plant Tissue and Cell Culture held at Tokyo and Lake Yamanake, Japan, July 11-16, 1982.

Ogita, S. (2005). Callus and cell suspension culture of bamboo plant, Phyllostachys nigra. *Plant Biotechnology,* 22(2), 119-125.

Ogita, S., Sasamoto, H., Yeung, E. C., & Thorpe, T. A. (2001). The effects of glutamine of the maintenance of embryogenic cultures of *Cryptomeria japonica*. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant,* 37(2), 268-273.

Pandey, B., & Singh, N. (2012). Micropropagation of *Dendrocalamus strictus* nees from mature nodal explants. *Journal of Applied and Natural Science,* 4(1), 5-9.

Perianez-Rodriguez, J., Manzano, C., & Moreno-Risueno, M. A. (2014). Post-embryonic organogenesis and plant regeneration from tissues: two sides of the same coin? *Frontiers in Plant Science,* 5, 219.

Prutpongse, P., & Gavinlertvatana, P. (1992). In vitro micropropagation of 54 species from 15 genera of bamboo. *HortScience,* 27(5), 453-454.

Rajput, B. S., Jani, M. D., Gujjar, M., & Shekhawat, M. (2019). Effective and Large Scale In

vitro Propagation of Dendrocalamus strictus (Roxb.) Nees using Nodal Segments as Explants. *World Scientific News,* 130, 238-249.

Ramanayake, S., & Wanniarachchi, W. (2003). Organogenesis in callus derived from an adult giant bamboo (Dendrocalamus giganteus Wall. Ex Munro). *Scientia Horticulturae,* 98(2), 195-200.

Rao, I. U., Rao, I. R., & Narang, V. (1985). Somatic embryogenesis and regeneration of plants in the bamboo Dendrocalamus strictus. *Plant cell reports,* 4(4), 191-194.

Rout, G., & Das, P. (1994). Somatic embryogenesis and in vitro flowering of 3 species of bamboo. *Plant cell reports,* 13(12), 683-686.

Saini, H., Arya, I. D., Arya, S., & Sharma, R. (2016). In vitro micropropagation of himalayan weeping bamboo, Drepanostachyum falcatum. *American Journal of Plant Sciences,* 7(09), 1317.

Saxena, S. (1990). In vitro propagation of the bamboo (Bambusa tulda Roxb.) through shoot proliferation. *Plant cell reports,* 9(8), 431-434.

Saxena, S., & Dhawan, V. (1999). Regeneration and large-scale propagation of bamboo (Dendrocalamus strictus Nees) through somatic embryogenesis. *Plant cell reports,* 18(5), 438-443.

Shroti, R. K., Upadhyay, R., Niratkar, C., & Singh, M. (2012). Micropropagation of Dandrocalamus asper through inter nodal segment. *BEPLS,* 1(4), 58-60.

Singh, S. R., Dalal, S., Singh, R., Dhawan, A., & Kalia, R. K. (2012). Micropropagation of Dendrocalamus asper {Schult. & Schult. F.} Backer ex k. Heyne: an exotic edible bamboo. *Journal of plant biochemistry and biotechnology,* 21(2), 220-228.

Skupa, P., Opatrny, Z., & Petrasek, J. (2014). Auxin biology: applications and the mechanisms behind. In *Applied Plant Cell Biology* (pp. 69-102): Springer.

Spokas, K. A., Baker, J. M., & Reicosky, D. C. (2010). Ethylene: potential key for biochar amendment impacts. *Plant and soil,* 333(1-2), 443-452.

Sujatha, M., & Reddy, T. (1998). Differential cytokinin effects on the stimulation of in vitro shoot proliferation from meristematic explants of castor (Ricinus communis L.). *Plant cell reports,* 17(6-7), 561-566.

Tsay, H.-S., Yeh, C., & Hsu, J. (1990). Embryogenesis and plant regeneration from anther culture of bamboo (*Sinocalamus latiflora* (Munro) McClure). *Plant cell reports,*

9(7), 349-351.

Vongvijitra, R. (1988). *Traditional vegetative propagation and tissue culture of some Thai bamboos.* Paper presented at the Bamboos current research. Proceedings of the international bamboo workshop.

Wei, Q., Cao, J., Qian, W., Xu, M., Li, Z., & Ding, Y. (2015). Establishment of an efficient micropropagation and callus regeneration system from the axillary buds of *Bambusa ventricosa*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC),* 122(1), 1-8.

Werner, T., Motyka, V., Laucou, V., Smets, R., Van Onckelen, H., & Schmülling, T. (2003). Cytokinin-deficient transgenic Arabidopsis plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the regulation of shoot and root meristem activity. *The Plant Cell,* 15(11), 2532-2550.

White, P. R. (1964). The cultivation of animal and plant cells. *Soil Science,* 97(1), 74.

Woods, S. H., Phillips, G. C., Woods, J. E., & Collins, G. B. (1992). Somatic embryogenesis and plant regeneration from zygotic embryo explants in Mexican weeping bamboo, Otatea acuminata aztecorum. *Plant cell reports,* 11(5-6), 257-261.

Ye, S., Cai, C., Ren, H., Wang, W., Xiang, M., Tang, X., Zhu, Q. (2017). An efficient plant regeneration and transformation system of Ma Bamboo (*Dendrocalamus latiflorus* Munro) started from young shoot as explant. *Frontiers in Plant Science,* 8, 1298.

Yeh, M. L., & Chang, W. C. (1987). Plant regeneration via somatic embryogenesis in mature embryo-derived callus culture of *Sinocalamus latiflora* (Munro) McClure. *Plant science.*

Yuan, J.L., Yue, J.J., Wu, X.L., & Gu, X.P. (2013). Protocol for callus induction and somatic embryogenesis in moso bamboo. *PloS one,* 8(12), e81954.

Zang, Q., Zhou, L., Zhuge, F., Yang, H., Wang, X., & Lin, X. (2016). Callus induction and regeneration via shoot tips of *Dendrocalamus hamiltonii. SpringerPlus,* 5(1), 1799.

กสานติ์ หาญชนะ และปิยะพร แสนสุข. (2018). ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการชักนำให้เกิดแคลลสัและโซมาติกเอ็มบริโอจากการเพาะเลี้ยงคัพภะในส้มหอม วารสารวิทยาศาสตร์ มข., 46(1), 131-141.

เฉลิมชัย วงศ์วัฒนะ. (2548). ฮอร์โมนพืช. กรุงเทพฯ: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร.

ธัญพิสิษฐ์ พวงจิก กษิดิศ พร้อมเพราะ และพรชัย หาระโคตร. (2016). ผลของปุ๋ยเคมีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของไผ่ซางหม่นที่เกิดจากเมล็ด. *Thai Journal of Science and Technology,* 5(3), 246-255.

นิ่มนวล วาศนา. (2528). การเลี้ยงเนื้อเยื่ออ่อนของไผ่สีสุก. (ปัญหาพิเศษปริญญาโท). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,

พีรเดช ทองอำไพ. (2019). ฮอร์โมนพืชและกสารสังเคราะห์ แนวทางการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วราภรณ์ อำพันกาญจน์. (2009). บทบาทของ Thidiazuron ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. *Journal of Yala Rajabhat University,* 4(2), 123-135.

ศูนย์ข้อมูลการเรียนรู้การเกษตรและวิถีธรรมชาติสำหรับชีวิตสมัยใหม่. (2011). ไผ่ซางหม่น. Retrieved from https://www.ifarm.in.th/index.php?option=com_mtree&task=viewlink&link_id=104&Itemid=162

สุทัศน์ เดชวิสิทธิ์. (2537). ไม้ไผ่ สำหรับคนรักไผ่ กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์อโกรคอมมิวนิก้า

สุทัศน์ เล้าสกุล. (2545). ไผ่เศรษฐกิจที่น่าสนใจในประเทศไทย. กรุงเทพฯ: กรมป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ ส่วนวนวัฒนวิจัย.

สุธิดา ฉันทานุรักษ์. (2534). การเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่: ผลของ *2,4-D, NAA,* และ *BAP* ต่อการเกิดแคลลัสและยอด. (วิทยานิพนธ์ปริญญาโท). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,

อภิศักดิ์ ดวงมณี. (2549). การขยายพันธุ์ไผ่รวก (*Thyrostachys siamensis)* โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. (วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยศิลปากร.

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ดวงฤทัย ปราสาททอง
วัน เดือน ปี เกิด	2 ธันวาคม 2535
สถานที่เกิด	สุพรรณบุรี
วุฒิการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์
ที่อยู่ปัจจุบัน	50 ม.3 ต.หนองปลิง อ.เลาขวัญ จ.กาญจนบุรี 71210
ผลงานตีพิมพ์	การชักนำให้เกิดคัลลัสจากชิ้นส่วนข้อในไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ (Dendrocalamus sericeus Munro). วารสารเวอร์ริเดียน. 6(4), 64-80. การชักนำให้เกิดคัลลัสจากชิ้นส่วนยอดในไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ (Dendrocalamus sericeus Munro). ในการประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 48 ร่วมกับโครงการประชุมวิชาการบัณฑิตศึกษาระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 9 และการประชุมวิชาการ “ศิลปากรวิจัย” ครั้งที่ 11 เรื่อง “นวัตกรรมและการสร้างสรรค์เพื่อการพัฒนาที่ยั่งยืน” หน้า S172-S179.

มหาวิทยาลัยศิลปากร