การขยายพันธุ์ไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis*) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

โดย

นายอภิศักดิ์ ดวงมณี

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาชีววิทยา

ภาควิชาชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2549

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

MICROPROPAGATION OF PAI RUAK (*Thyrsostachys siamensis*)

By
Apisak Dongmanee

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree
MASTER OF SCIENCE
Department of Biology
Graduate School
SILPAKORN UNIVERSITY
2006

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร อนุมัติให้วิทยานิพนธ์เรื่อง " การขยายพันธุ์ไผ่รวก (*Thyrostachys siamensis*) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ " เสนอโดย นายอภิศักดิ์ ดวงมณี เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

……..

(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริชัย ชินะตังกูร)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....เดือน..... พ.ศ.....

ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์

1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โชคพิศิษฐ์ เทพสิทธา
2. รองศาสตราจารย์ ดร.อารีย์ ทองภักดี

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วิไลภรณ์ บุญญกิจจินดา)

...../...../.....

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โชคพิศิษฐ์ เทพสิทธา)

...../...../.....

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.อารีย์ ทองภักดี)

...../...../.....

..... กรรมการ

(ดร.ชบา จำปาทอง)

...../...../.....

46303206 : สาขาวิชาชีววิทยา
คำสำคัญ : การขยายพันธุ์ไผ่รวก, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, *Thyrsostachys siamensis*

อภิศักดิ์ ดวงมณี : การขยายพันธุ์ไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis*) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ : ผศ.ดร.โชคพิศิษฐ์ เทพสิทธา และ รศ.ดร.อารีย์ ทองภักดี. 66 หน้า.

วิธีการที่เหมาะสมสำหรับการฟอกฆ่าเชื้อส่วนข้อของไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis*)โดยใช้สารละลายไฮเตอร์ (6% w/w NaOCl) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที ให้ผลการปลอดเชื้อที่ผิวส่วนข้อดีที่สุด 82 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการชักนำให้เกิดยอดจากตาข้างของไผ่รวก โดยเพาะเลี้ยงข้อของไผ่รวกในอาหารกึ่งแข็งสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม N^6-Benzyladenine (BA) ที่ระดับ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดจำนวนยอดต่อตาข้างอย่างมีนัยสำคัญ 13.5 ยอดต่อตาข้าง สำหรับการเพิ่มขยายจำนวนยอดทวีคูณพบว่า เมื่อนำกลุ่มยอดที่มี 3 ยอดต่อกลุ่มที่ได้จากตาข้าง เลี้ยงในอาหารเหลวสภาพเขย่าสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kinetin (Kn) ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลในการเกิดยอดทวีคูณของไผ่รวกมากที่สุด คือ 36.1 ยอด ในเวลา 8 สัปดาห์ ซึ่งคิดเป็นอัตราการเพิ่มขยาย 12 เท่า การเกิดยอดทวีคูณในอาหารเหลวสภาพนิ่งและสภาพเขย่าให้ผลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในช่วงระยะเวลา 8 สัปดาห์ ส่วนการชักนำให้เกิดคัลลัสจากปลายยอด พบว่า อาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Indole-3-butyric acid (IBA) ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ขนาดคัลลัสใหญ่ที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ คือ 0.62 เซนติเมตร ในระยะเวลา 12 สัปดาห์ จากนั้นนำคัลลัสขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร ที่ได้มาชักนำให้เกิดยอดบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยให้จำนวนต้นมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ 27.0 ยอดต่อกลุ่มคัลลัส ในช่วงระยะเวลา 12 สัปดาห์ สำหรับการชักนำให้เกิดรากทำได้โดยนำกลุ่มของยอด 3-5 ยอดต่อกลุ่ม เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ แล้วย้ายลงในอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เพื่อให้รากยืดยาวมากขึ้น

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

ภาควิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร ปีการศึกษา 2549

ลายมือชื่อนักศึกษา อภิศักดิ์ ดวงมณี

ลายมือชื่ออาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ 1. โชคพิศิษฐ์ เทพสิทธา 2. .....

46303206 : MAJOR : BIOLOGY
KEY WORD : MICPOPROPAGATION, *Thyrsostachys siamensis*
APISAK DUANGMANEE : MICROPROPAGATION OF PAI RUAK (*Thyrsostachys siamensis*) THESIS ADVISOR: ASST. DROF. CHOCKPISIT THEPSITHAR, Ph. D. AND ASSOC.PROF. AREE HONGPUKDEE, Ph. D. 66 pp.

The most suitable condition for surface sterilization of Pai Ruak (*Thyrsostachys siamensis*) nodal explant was 10% Haiter (6% w/w NaOCl) for 10 min., providing 82 % survival in sterilized condition. Nodal explants of *T. siamensis* Gamble were cultured on semi-solid Murashige and Skoog's (MS) medium to induce shoots from auxillary buds. N^6-Benzyladenine (BA) at concentration of 2.5 mg/l significantly induced 13.5 shoots per an auxillary bud. For multiple shoot induction, a cluster of 3 shoots derived from axillary buds was cultured in agitated liquid MS medium supplemented with BA and Kinetin (Kn). The combination of 10.0 mg/l BA and 0.5 mg/l Kn provided the best multiple shoots with 36.1 shoots within 8 weeks. The multiplication rate was 12 fold. Numbers of multiple shoots induced from stationary and agitated liquid medium were significantly different within 8 weeks of culturing. For callus induction from shoot clusters, callus formed well on medium supplemented with 2.5 mg/l 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), 1.0 mg/l Kn and 0.4 mg/l Indole-3-butyric acid (IBA) and providing significantly the largest callus about 0.62 cm. within 12 weeks. The callus about 2 cm. in diameter was regenerated to shoots on MS medium supplemented with 2.5 mg./l BA and 0.7 mg/l IBA providing significantly the highest number of 27 shoots per callus within 12 weeks of culturing. Roots were initiated from a cluster of 3-5 shoots on MS medium added with 5.0 mg/l of 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) for 3 weeks, and then transferred to MS medium without plant growth regulator for root elongation.

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

Department of Biology Graduate School, Silpakorn University Academic Year 2006
Student's signature Apisak Duangmanee
Thesis Advisors' signature 1. Chockpisit Thepsithar 2. Aree Hongpukdee

กิตติกรรมประกาศ

การทำวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โชคพิศิษฐ์ เทพสิทธา ประธานผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ และรองศาสตราจารย์ ดร. อารีย์ ทองภักดี ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ ช่วยเหลือสนับสนุนการวิจัย แก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ในการเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ตลอดจนอำนวยความสะดวกในด้านห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและเครื่องมืออุปกรณ์การทำวิจัย ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์วิไลภรณ์ บุญญกิจจินดา ประธานคณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์ และ ดร. ชบา จำปาทอง กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนวความคิด ตลอดจนคำแนะนำต่างๆ และคอยให้กำลังใจ เอาใจใส่ในการทำวิจัยครั้งนี้ รวมทั้งผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัยที่กรุณาให้คำแนะนำ และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ขอขอบคุณ คุณสมพร คำชมภู คุณฐิฏิรัตน์ สังข์ทอง คุณสุเนตร กุกสันเทียะ คุณจิดาภา จำปาทอง และ พี่ๆ น้องๆ ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในเรื่องการทำปฏิบัติการ ให้กำลังใจ และช่วยให้การวิจัยเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ

ขอขอบคุณคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาศิลปากร ที่กรุณาให้ความรู้ ความเอื้อเฟื้อและความสะดวกในด้านอุปกรณ์ สารเคมี และสถานที่ในการวิจัย

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่คอยอบรมสั่งสอนและเป็นตัวอย่างที่ดีให้แก่ลูก ให้กำลังใจและสนับสนุนให้ลูกได้รับการศึกษามาโดยตลอด ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ดี

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

ย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญตาราง..... ฎ

สารบัญรูป..... ฎ

บทที่

1 บทนำ..... 1

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย..... 2

3. ขอบเขตของการศึกษา..... 2

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 3

2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 4

1. การขยายพันธุ์ไผ่รวกโดยทั่วไป..... 4

1.1 การขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด..... 4

1.2 การขยายพันธุ์โดยใช้ส่วนของลำกับเหง้า..... 5

1.3 การขยายพันธุ์โดยใช้กิ่งแขนง..... 5

2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ..... 5

2.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเอ็มบริโอ..... 5

2.2 การการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนยอด..... 6

2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนข้อ..... 6

2.4 การเพาะเลี้ยงอับเรณู..... 8

2.5 การเพาะเลี้ยงเมล็ด..... 8

2.6 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อช่อดอก..... 9

2.7 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อน..... 10

3 อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีดำเนินการวิจัย..... 11

1. อุปกรณ์และสารเคมี..... 11

1.1 พืชทดลอง..... 11

1.2 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร..... 11

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
	1.2.1 สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร.....	11
	1.2.2 สารเคมีควบคุมการเจริญเติบโต.....	11
	1.3 สารเคมีที่ใช้ฆ่าเชื้อ.....	11
	1.4 เครื่องมือ.....	12
	1.4.1 อุปกรณ์และวัสดุสำหรับใช้เตรียมอาหาร.....	12
	1.4.2 อุปกรณ์และวัสดุสำหรับตัดและถ่ายเนื้อเยื่อ.....	12
	2. วิธีการทดลอง.....	13
	2.1. การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การแพร่กระจายและ นิเวศวิทยาของไผ่รวก.....	13
	2.1.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา.....	13
	2.1.2 ถิ่นที่อยู่และการแพร่กระจาย.....	13
	2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่รวก.....	14
	2.2.1 การศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของเนื้อเยื่อเริ่มต้น สำหรับการเพาะเลี้ยง.....	14
	2.2.2 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิด ยอดจากตาข้อ.....	15
	2.2.3 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิด ยอดทวีคูณจากกลุ่มยอด.....	16
	2.2.4 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิด คัลลัสจากกลุ่มยอด.....	17
	2.2.5 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการพัฒนาคัลลัส ไปเป็นยอด.....	18
	2.2.6 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำยอดให้ เกิดราก.....	19
4	ผลการทดลอง.....	20
	1. การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การแพร่กระจายและนิเวศวิทยา ของไผ่รวก.....	20

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
	2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่รวก	26
	2.1 การศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของเนื้อเยื่อเริ่มต้นสำหรับการเพาะเลี้ยง	26
	2.2 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อ	28
	2.3 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากกลุ่มยอด	31
	2.4 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากกลุ่มยอด	35
	2.5 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการพัฒนาคัลลัสไปเป็นยอด	40
	2.6 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำยอดให้เกิดราก	45
5	วิจารณ์ผลการทดลอง	49
	1. การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การแพร่กระจายและนิเวศวิทยาของไผ่รวก	49
	2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่รวก	49
	2.1 การศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของเนื้อเยื่อเริ่มต้นสำหรับการเพาะเลี้ยง	49
	2.2 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อ	50
	2.3 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากกลุ่มยอด	51
	2.4 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากกลุ่มยอด	52
	2.5 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการพัฒนาคัลลัสไปเป็นยอด	53
	2.6 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำยอดให้เกิดราก	54

มหาวิทยาลัยศิลปากร ศูนย์วิทยทรัพยากร

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
6	สรุปผลการทดลอง	55
	1. การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การแพร่กระจายและนิเวศวิทยาของไผ่รวก	55
	2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่รวก	55
	2.1 การศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของเนื้อเยื่อเริ่มต้นสำหรับการเพาะเลี้ยง	55
	2.2 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อ	55
	2.3 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากกลุ่มยอด	56
	2.4 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากกลุ่มยอด	56
	2.5 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการพัฒนาคัลลัสไปเป็นยอด	56
	2.6 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำยอดให้เกิดราก	56
ข้อเสนอแนะ		58
บรรณานุกรม		59
ภาคผนวก		64
	สูตรอาหารของ Murashige and Skoog (1962)	65
ประวัติผู้วิจัย		66

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงข้อมูลตัวอย่างแห้งไผ่รวกอ้างอิงในพิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา (BKF)และพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพ(BK) ที่ศึกษา.....	24-25
2	ผลการปลอดเชื้อของชิ้นส่วนข้อเมื่อทำการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวโดยใช้สารละลายไฮเตอร์ความเข้มข้น เวลา และช่วงเวลาที่แตกต่างกัน.....	27
3	ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้นต่างๆต่อการเกิดยอดของตาข้างที่ข้อไผ่รวกที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	29
4	ผลของ BA ร่วมกับ Kn ต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากกลุ่มยอดที่ประกอบด้วย 3 ยอดต่อกลุ่ม ของไผ่รวก ที่เลี้ยงในอาหาร MS สภาพต่างๆเป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	32
5	ผลของ 2,4-D, Kn และ IBA ความเข้มข้นต่างๆต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากกลุ่มยอดของไผ่รวกที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	37
6	ผลของสารเร่งการเจริญเติบโต IBA, Kn, BA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆต่อการพัฒนาคัลลัสไปเป็นยอด ที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	42
7	ผลของ NAA และ IBA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร 1/2 MS ต่อการชักนำกลุ่มยอด 3 ยอดต่อกลุ่ม ของไผ่รวกให้เกิดราก หลังจากการเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	46
8	ผลของ NAA และ IBA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการชักนำกลุ่มยอด 3 ยอดต่อกลุ่ม ของไผ่รวกให้เกิดราก หลังจากการเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ แล้วย้ายลงอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารเร่งการเจริญเติบโต เป็นเวลา 1 สัปดาห์.....	47

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลงวันที่สิทธิ์

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis* Gamble).....	23
2	ผลของ BA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเกิดยอดของไผ่รวกที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	30
3	ผลของ BA และ Kn ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเกิดยอดทวีคูณของไผ่รวกที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS สภาพต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์.....	34
4	ผลของ 2,4-D, Kn และ IBA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเกิดคัลลัสจากกลุ่มยอดที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	39
5	ผลของ IBA, Kn, BA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆต่อการพัฒนาคัลลัสไปเป็นยอด ที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์.....	44
6	ผลของ NAA และ IBA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำกลุ่มยอดให้เกิดรากที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS และ 1/2 MS เป็นเวลา 5 สัปดาห์.....	48

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

บทที่ 1

บทนำ

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis*) เป็นทรัพยากรป่าไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทยพบมากที่จังหวัดกาญจนบุรี โดยมีการนำส่วนของลำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวาง เช่น ลำไผ่นำมาใช้เป็นวัสดุก่อสร้าง ที่อยู่อาศัย เฟอร์นิเจอร์ ยารักษาโรคและของใช้ต่างๆ เช่น ตะกร้า ตะเกียบ ร่ม พัด คันเบ็ดตกปลา เป็นต้น ทางด้านการเกษตร ใช้ลำไผ่เป็นไม้ค้ำยัน ปลูกต้นไผ่เป็นแนวกั้นลมหรือปลูกเป็นแนวรับน้ำเพื่อป้องกันการพังทลายของหน้าดิน ตลอดจนมีการนำลำเป็นวัตถุดิบที่สำคัญในอุตสาหกรรมกระดาษ (รุ่งนภาและคณะ 2544; วุฒิ 2540; สุทัศน์ 2537) นอกจากนี้ หน่ออ่อนของไผ่ยังใช้สำหรับบริโภคเช่นเดียวกับผักชนิดอื่นๆ

จากการที่ไผ่รวกเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจทำให้การตัดใช้จากแหล่งธรรมชาติมีจำนวนมาก โดยอยู่ระหว่าง 30-40 ล้านลำต่อปี ในขณะที่ประเทศไทยมีพื้นที่ป่าไผ่อยู่ทางตอนกลางประมาณ 2.8 ล้านไร่ และทางตอนเหนือประมาณ 623,700 ไร่ ซึ่งขึ้นผสมในป่าเบญจพรรณ มีการนำไผ่มาใช้ประโยชน์ทางด้านต่างๆ รวมทั้ง ด้านอุตสาหกรรม โดยที่จังหวัดลำปางขายลำไผ่รวกประมาณ 500,000 ลำต่อปี นอกจากนี้ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมตะเกียบและไม้เสียบอาหารค๊อกเทล 5,000 ตันต่อปี และในโรงงานอุตสาหกรรม เซรามิกใช้ลำไผ่แห้ง 100,000 ลูกบาศก์เมตรต่อปี เป็นเชื้อเพลิง ที่จังหวัดกาญจนบุรี ใช้ลำไผ่รวกในโรงงานผลิตกระดาษ 10 ตันต่อวัน และใช้ประโยชน์ในด้านอื่น ๆ อีกกว่า 5,000,000 ลำ นอกจากนี้ในปี พ.ศ. 2528-2530 มีการส่งออกลำไผ่รวกไปยังทวีปยุโรป โดยเฉพาะประเทศเยอรมนี อังกฤษ และอิตาลี ประมาณ 8,350 4,250 และ 4,500 ตัน ซึ่งคิดเป็นเงินมูลค่า 55,000 50,000 และ 66,000 ดอลลาร์ ตามลำดับ นอกจากการใช้ประโยชน์จากลำไผ่ที่โตเต็มวัยแล้วการเก็บเกี่ยวหน่อไผ่รวกจากธรรมชาติสามารถเพิ่มรายได้ให้กับชุมชนในหลายพื้นที่ เช่น อำเภอชัยภูมิ จังหวัดชัยภูมิ โดยเกษตรกรเก็บเกี่ยวหน่อไผ่รวกมากกว่า 500 ตันต่อปี เพื่อส่งออกยังประเทศญี่ปุ่น (Dransfield และ Widjaja 1997) นอกจากนี้ยังมีการส่งผลิตภัณฑ์ของไผ่รวกเป็นสินค้าส่งออกในรูปของอาหาร ทั้งหน่อไม้สด หน่อไม้แห้ง และหน่อไม้บรรจุกระป๋อง ภายในปี พ.ศ. 2529 และ 2530 คิดเป็นมูลค่าการส่งออกถึง 28.46 และ 42.89 ล้านบาท ตามลำดับ (Boontawee และ Ramyarangsi 1989)

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ KASETSART UNIVERSITY

การขยายพันธุ์ไผ่มีข้อจำกัดเนื่องมาจากสภาพแวดล้อม มนุษย์ ไฟป่า แมลง สัตว์กัดกินเมล็ดพันธุ์หรือหน่อไผ่ อายุที่สามารถออกดอกได้ใช้เวลาประมาณ 30-100 ปี (Austin และคณะ 1983; Banik 1980) การออกดอกของไผ่ไม่สามารถทำนายได้และมีการติดเมล็ดน้อยในไผ่บางชนิด (Rout และ Das 1994) ส่วนการปักชำโดยใช้ส่วนของลำและเหง้าไม่สามารถขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว เพราะท่อนพันธุ์มีอัตราการรอดตายต่ำ (ศูนย์ปฏิบัติการพืชเศรษฐกิจ 2004; Banik 1980; Hasan 1980) โดยทั่วไปการขยายพันธุ์ไผ่รวกในปัจจุบันส่วนใหญ่ใช้กิ่งแขนงและการแยกเหง้า แต่ไม่สามารถทำการขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว ได้ปริมาณจำกัด และมีค่าใช้จ่ายสูง สำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เป็นการขยายพันธุ์พืชวิธีหนึ่งที่ประสบความสำเร็จในพืชหลายชนิด (กรมส่งเสริมการเกษตร 2546) สามารถผลิตต้นพันธุ์พืชปริมาณมากๆในระยะเวลาอันรวดเร็ว มีขนาดสม่ำเสมอและปลอดโรค เมื่อเปรียบเทียบกับการขยายพันธุ์วิธีอื่นๆ ด้วยเหตุนี้เป้าหมายหลักของการศึกษาวิจัยครั้งนี้เพื่อศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การแพร่กระจาย นิเวศวิทยาและอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการขยายพันธุ์ไผ่รวกโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

1. เพื่อศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การแพร่กระจายและนิเวศวิทยาของไผ่รวก
2. เพื่อศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของเนื้อเยื่อเริ่มต้นสำหรับการเพาะเลี้ยง
3. เพื่อศึกษาหาอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อ
4. เพื่อศึกษาหาอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากกลุ่มยอด
5. เพื่อศึกษาหาอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากกลุ่มยอด
6. เพื่อศึกษาหาอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการพัฒนาคัลลัสไปเป็นยอด
7. เพื่อศึกษาหาอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการชักนำยอดให้เกิดราก

3. ขอบเขตของการศึกษา

1. ศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การแพร่กระจายและนิเวศวิทยาของไผ่รวกโดยศึกษาจากตัวอย่างแห้งในพิพิธภัณฑ์ 2 แห่ง
2. ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายไฮเตอร์ เวลาและช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของเนื้อเยื่อเริ่มต้นสำหรับการเพาะเลี้ยง
3. ศึกษาอาหารสังเคราะห์ 5 สูตร ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจากตาข้อ
4. ศึกษาอาหารสังเคราะห์ 6 สูตร ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากกลุ่มยอดในสภาพของอาหารที่แตกต่างกัน

5. ศึกษาอาหารสังเคราะห์ 13 สูตร ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากกลุ่มยอด
6. ศึกษาอาหารสังเคราะห์ 13 สูตร ที่มีผลต่อการพัฒนาคัลลัสไปเป็นยอด
7. ศึกษาอาหารสังเคราะห์ 9 สูตร ที่มีผลต่อการชักนำยอดให้เกิดราก

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การแพร่กระจายและนิเวศวิทยาของไผ่รวก
2. ทราบถึงอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากตาข้อ
3. ทราบถึงความเข้มข้นของไฮเตอร์ (haiter) เวลาและช่วงเวลาที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อของเนื้อเยื่อเริ่มต้น
4. ทราบถึงอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากกลุ่มยอด
5. ทราบถึงอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากกลุ่มยอด
6. ทราบถึงอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการพัฒนาคัลลัสไปเป็นยอด
7. ทราบถึงอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำยอดให้เกิดราก

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ไผ่มีถิ่นกำเนิดและการกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติอย่างกว้างขวาง ทั้งในเขตอบอุ่น กึ่งร้อน และร้อน ทั่วโลกมีไผ่ประมาณ 75 สกุล (genera) 1,250 ชนิด (species) (FAO 1978) มีการกระจายพันธุ์มากที่สุดในเขตร้อนของเอเชียถึง 45 สกุล 750 ชนิด (Dransfield, 1980) ในประเทศไทยมีไผ่ประมาณ 12 สกุล 41 ชนิด (Ramyarangesi 1985; Smitinand และ Ramyarangesi 1980) กระจายทั่วทุกภาคของประเทศไทย โดยพบขึ้นเป็นไม้ชั้นล่างในป่าเบญจพรรณ ป่าดิบชื้นและป่าดิบเขา (วนิดา 2539; เต็มและชุมศรี 2538) ผลจากข้อมูลการศึกษาและแปลภาพถ่ายจากดาวเทียม LANSAT TM ในช่วงเดือนมกราคม-กุมภาพันธุ์ 2535 ร่วมกับภาคสำรวจในพื้นดินปี 2536 (Thammincha และคณะ 1996) พบว่า ภาคเหนือและภาคตะวันตกของประเทศ มีพื้นที่ป่าเบญจพรรณผสมป่าไผ่ (mixed deciduous forest) ประมาณ 31.14 ล้านไร่ และมีพื้นที่ป่าไผ่ล้วน (bamboo forest) 1.68 ล้านไร่ คิดเป็นร้อยละ 37.31 และ 2.01 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับพื้นที่ป่าไม้ของประเทศในปี 2536 ซึ่งมีประมาณร้อยละ 36.03 ของพื้นที่ประเทศ หรือประมาณ 83.47 ล้านไร่ (ส่วนศูนย์ข้อมูลกลาง 2541)

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ศูนย์วิทยทรัพยากร

1. การขยายพันธุ์ไผ่รวกโดยทั่วๆไป

ไผ่รวกสามารถขยายพันธุ์ได้ทั้งวิธีการใช้เพศโดยการใช้เมล็ด และไม่ใช้เพศ ซึ่งสามารถขยายพันธุ์ได้หลายวิธี ได้แก่ การแยกกอหรือแยกเหง้า การปักชำส่วนของลำและกิ่งแขนง

1.1 การขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด

โดยทั่วไปไผ่ออกดอกประมาณเดือนตุลาคม-กุมภาพันธ์ และติดเมล็ดประมาณเดือนมีนาคม-เมษายน ควรเก็บเมล็ดพันธุ์เมื่อเมล็ดร่วงลงสู่พื้นดินเพราะการเก็บเมล็ดจากลำจะได้เมล็ดไม่แก่จัด ในสภาพธรรมชาติไผ่รวกสามารถผลิตเมล็ดพันธุ์ได้จำนวนมากในแต่ละปี การขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ดได้กล้าจำนวนมาก แต่เมล็ดไผ่รวกส่วนมากมีอายุการเก็บรักษาสั้น หากเก็บไว้นานๆจะลดลง เช่น เมล็ดที่เก็บไว้นาน 7 เดือน ในสภาพธรรมชาติเมื่อนำมาเพาะปรากฏว่าไม่งอกเลย ทั้งที่มีเมล็ดดีถึง 96 เปอร์เซ็นต์ (ศูนย์ปฏิบัติการพืชเศรษฐกิจ 2004) เนื่องสภาพสิ่งแวดล้อมและการสูญเสียความชื้นภายในเมล็ด (Anantachote 1988) นอกจากนี้อุณหภูมิที่ใช้เก็บเมล็ดมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บนานขึ้น (Ramyarangesi 1988)

1.2 การขยายพันธุ์โดยใช้ส่วนของลำกับเหง้า

เป็นวิธีการแยกกอปลูกซึ่งสามารถใช้ได้กับไผ่ทุกชนิด เช่น ไผ่ตง ไผ่รวก ไผ่เลี้ยง ฯลฯ โดยวิธีการนี้ได้ผลมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับความแข็งแรงของเหง้าและระยะเวลาในการปลูกปกติคือ เหง้าที่ใช้ควรมีอายุ 1-2 ปี มีตาที่สมบูรณ์แต่มีข้อจำกัด คือ การหาเหง้าที่เหมาะสมมาใช้ปลูกในปริมาณมากทำได้ยากและเมื่อทำการแยกมากเกินไปจะทำให้กอเดิมได้รับอันตรายรวมทั้งสิ้นเปลืองแรงงานและค่าใช้จ่ายอื่น ตลอดจนการขนส่งลำบากและมีราคาแพง ดังนั้นการขยายพันธุ์เพื่อใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมจึงทำได้ยาก (ประสาน และสกลศักดิ์ 2528)

1.3 การขยายพันธุ์โดยใช้กิ่งแขนง

กิ่งแขนงเป็นกิ่งที่แตกมาจากส่วนข้อของลำ ความสำเร็จในการขยายพันธุ์โดยวิธีนี้ขึ้นอยู่กับการเลือกกิ่งแขนงและวิธีการดูแลกิ่งแขนงในแปลงเพาะชำ กิ่งแขนงควรมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-1.5 นิ้ว ต้องมีรากที่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือเหลืองอมน้ำตาล ใบคลี่แล้ว กาบหุ้มตาหลุดหมด กิ่งต้องมีอายุอย่างน้อย 1-2 ปี โดยใช้ระยะเวลาในการปักชำประมาณ 8-12 เดือน จะทำให้ได้กิ่งพันธุ์แข็งแรงและมีเปอร์เซ็นต์การรอดตายสูง (สุภาวดี 2527) และใช้ระยะเวลานานเช่นเดียวกับการปักชำกิ่งแขนงของไผ่ตง

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

การขยายพันธุ์ไผ่ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีผู้วิจัยศึกษาไว้มีการนำส่วนต่างๆมาใช้ในการเพาะเลี้ยง คือ ส่วนเอ็มบริโอ ส่วนยอด ส่วนข้อ อับเรณู เมล็ด ช่อดอก และใบอ่อน ดังนี้

2.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเอ็มบริโอ

Alaxander และ Rao (1968) พบว่า เอ็มบริโอจากเมล็ดไผ่ชนิดต่างๆสามารถเจริญเติบโตได้บนสูตรอาหาร White (1963) และ สูตร ของ Nitsh และNitsh (1969) โดยใช้แสง 12-16 ชั่งโมงต่อวัน ซึ่งเอ็มบริโอใช้เวลาในการงอกภายใน 3-5 วัน โดยงอกได้ดีบนสูตรอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของน้ำตาล 2 เปอร์เซ็นต์

2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนยอด

Saxena (1990) พบว่า การขยายพันธุ์ไผ่บงดำ (*Bambusa tulda* Roxb.) โดยใช้ส่วนยอดของต้นที่มีอายุ 3 ปี เลี้ยงบนอาหารเหลวสูตร Murashige และ Skoog (1962) (MS) ที่เติม 6-benzylaminopurine (BAP) ความเข้มข้น $8x10^{-6}$โมลาร์ (1.8 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ Kn ความเข้มข้น $4x10^{-6}$โมลาร์ (0.9 มิลลิกรัมต่อลิตร) สามารถเกิดยอด 4-5 เท่าทุกๆ 3 สัปดาห์ และสามารถชักนำให้เกิดรากได้ 90 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม IAA ความเข้มข้น $1x10^{-5}$โมลาร์ (0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ Coumarin ความเข้มข้น $6.8x10^{-5}$โมลาร์ (4.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) ทำการย้ายปลูกลงแปลงปลูกได้สำเร็จกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

2.3 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนข้อ

Rout และ Das (1944) ทำการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนข้อของไผ่เหลือง (*Bambusa vulgaris*) ไผ่เป๊าะ (*Dendrocalamus giganteus*) และไผ่ซาง (*Dendrocalamus strictus*) บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย Kinetin (Kn) 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร adeninesulphate ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ เกิด somatic embryo และพัฒนาเป็นต้น 95-98 เปอร์เซ็นต์ และสามารถย้ายออกปลูกได้สำเร็จ 95 เปอร์เซ็นต์ ส่วนต้นในหลอดทดลองสามารถชักนำให้เกิดดอกบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย indole-3-butyric acid (IBA) ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร Indole-3-acetic acid (IAA) ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร adeninesulphate ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Gibberellic acid (GA_3) ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์

สุธิดา (2534) ทำการทดลองโดยเพาะเมล็ดไผ่ซาง (*Dendrocalamus strictus*) และไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis*) จากนั้นนำส่วนข้อจากต้นอ่อนมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BAP ร่วมกับ α-naphtaleneacetic acid (NAA) พบว่ามีการเกิดยอดทวีคูณได้ดีที่สุดบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเกิดยอด 88.9 เปอร์เซ็นต์ ในไผ่ซาง และ 77.8 เปอร์เซ็นต์ ในไผ่รวก และพบว่า 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำเมล็ดและต้นอ่อนของไผ่ซาง ไผ่ป่า และไผ่รวกให้เกิดคัลลัสและในอาหารสูตรเดียวกันนี้สามารถพัฒนาคัลลัสไปเป็น somatic embryo ได้ และเมื่อนำ somatic embryo เลี้ยงบนอาหารที่ปราศจาก 2,4-D สามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ ส่วนการนำกาบใบอ่อนของไผ่ทอง (*Sinocalamus brachycladum*) และไผ่สีสุก (*Bambusa vulgaris*) มาเลี้ยงบนอาหารที่มี 2,4-D เกิดคัลลัสขึ้นได้บนกาบใบอ่อน แต่คัลลัสนี้ไม่สามารถพัฒนาเป็น somatic embryo ได้ นำคัลลัสที่ได้มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ

มหาวิทยาลัยศิลปากร ศูนย์วิทยทรัพยากร

NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดยอดและชักนำให้เกิดรากบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA หรือ NAA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำต้นที่สมบูรณ์ย้ายออกปลูกมีชีวิตรอดถึง 67 เปอร์เซ็นต์ ในไผ่ซาง และ 82 เปอร์เซ็นต์ ในไผ่รวก

Prutpongse และ Gavinlertvatana (1992) ทำการทดลองขยายพันธุ์ไผ่ 54 ชนิด จาก 15 สกุล ในหลอดทดลอง โดยใช้ตาข้อของลำต้นเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 22 ไมโครโมล (5 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่ามีการเกิดยอด 43 ยอด ภายในระยะเวลา 30 วัน ในข้อไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*) และเกิดรากในอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 2.7-5.4 ไมโครโมล (0.5-1 มิลลิกรัมต่อลิตร) และพบอีกว่าสามารถเก็บส่วนยอดในไผ่หลายชนิดในอาหารสูตร 1/2 MS ที่อุณหภูมิ ห้องได้มากกว่า 15 เดือน โดยไม่ต้องเปลี่ยนอาหาร

Lin และ Chang (1998) ขยายพันธุ์ไผ่ *Bambusa edulis*, *B. odashimae* โดยใช้เนื้อเยื่อส่วนข้อจากต้นที่มีอายุ 10 ปี มาเพิ่มจำนวนยอดบนอาหารสูตรพื้นฐาน MS ร่วมกับ Thidiazuron (TDZ) ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อมานำมาชักนำให้เกิดรากบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และย้ายออกปลูกลงดินได้สำเร็จ พบว่า เกิดยอดลักษณะผิดปกติ 30 เปอร์เซ็นต์ และยังพบว่าทั้งยอดที่มีสีเขียวและยอดที่ผิดปกติเกิดการสร้างดอกบนอาหารสูตร MS ที่มี TDZ เมื่อย้ายลงปลูกพบว่ามีชีวิตรอดหลังการออกดอก

มหาวิทยาลัยศิลปากร ศูนย์วิทยทรัพยากร

Godbole และคณะ (2002) นำยอดอ่อนจากส่วนข้อของต้นไผ่หก (*Dendrocalamus hamiltonii*) มาชักนำให้เกิดคัลลัสบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ต่อมานำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิด somatic embryo แล้วนำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ปราศจากสารเร่งการเจริญเติบโตสามารถเจริญไปเป็นต้นได้ 80 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 21 วัน และเมื่อนำออกปลูกภายในโรงเพาะชำก่อนย้ายปลูกลงดิน มีชีวิตรอด 78 เปอร์เซ็นต์

Lin และคณะ (2004) ทำการศึกษาผลของ TDZ ต่อการพัฒนาของคัลลัสไปเป็น somatic embryo และสามารถพัฒนาจนเกิดดอกของไผ่ *Bambusa edulis* เมื่อนำเนื้อเยื่อส่วนข้อมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.046 ไมโครโมล (0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร) ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 13.6 ไมโครโมล (3 มิลลิกรัมต่อลิตร) และน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ เกิด somatic embryo ต่อมานำมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.455 ไมโครโมล (0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร) สามารถพัฒนาไปเป็นต้นได้ 80 เปอร์เซ็นต์ เกิดการสร้างดอกแต่ไม่มีเมล็ด

2.4 การเพาะเลี้ยงอับเรณู

Tsay และคณะ (1990) ทำการชักนำให้เกิดคัลลัสจากการเลี้ยงอับเรณูของไผ่ Taiwan giant [*Sinocalamus latiflora* (Munro) McClure] บนอาหารสูตรของ Chu และคณะ (1975) ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร Charcoal 2 มิลลิกรัมต่อลิตร วุ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ และน้ำตาลกลูโคส 9 เปอร์เซ็นต์ และพบว่า ไมโครสปอร์ที่ระยะ mid-uninucleate ถึง early-binucleate มีการตอบสนองที่ดีสามารถชักนำให้เกิดคัลลัสและสามารถพัฒนาเป็น somatic embryo และเกิดรากในเวลาต่อมา เมื่อนับจำนวนโครโมโซมจากเซลล์ปลายรากของต้นไผ่ที่กำเนิดจากอับเรณูพบว่ามีจำนวนโครโมโซมเป็นครึ่งหนึ่ง (n = 36) ของโครโมโซมทั้งหมด

2.5 การเพาะเลี้ยงเมล็ด

Metha และคณะ (1982) พบว่า การเพาะเลี้ยงเมล็ดไผ่ป่า (*Bambusa arundinacea*) บนอาหารสูตร N_6 ของ Chu และคณะ (1975) ที่เติมน้ำตาล 5 เปอร์เซ็นต์ และชักนำให้เกิดคัลลัสบนอาหารสูตร N_6 ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น $3x10^{-5}$ โมลาร์ ต่อมาย้ายคัลลัสไปเลี้ยงบนอาหารสูตร N_6 ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น $3x10^{-5}$ โมลาร์ (0.06 มิลลิกรัมต่อลิตร) ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น $5x10^{-5}$ โมลาร์ (0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ polyvinylpyrrolidine (PVP) 250 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้คัลลัสพัฒนาเป็น somatic embryo จำนวนมาก

มหาวิทยาลัยศิลปากร ศูนย์วิทยทรัพยากร

Woods และคณะ (1992) ทำการแยกเอ็มบริโอจากเมล็ดไผ่ Mexican Weeping (*Otatea acuminate* ssp. Aztecorum, *Yushania aztecorum*) มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ อาหารสูตร B5 ของ Gamborg และคณะ (1968) ในที่มืดและสว่าง มีการพัฒนาไปเป็นต้น แต่เมื่อเลี้ยงในที่มืดบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า เอ็มบริโอพัฒนาไปเป็นยอดและรากได้มากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ เมื่อย้ายปลูกลงแปลงมีชีวิตรอด 85 เปอร์เซ็นต์

Ravikumar และคณะ (1998) ทำการเลี้ยงเมล็ดของไผ่ซาง (*Dendrocalamus strictus* Nees) บนอาหารสูตรของ White (1963) แล้วทำการเพิ่มจำนวนยอดจากตาข้างของต้นที่โตเต็มที่แล้ว บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดยอด 34-35 ยอดต่อข้อ ภายใน 20-25 วัน และชักนำให้เกิดรากบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร

Saxena และ Dhawan (1999) ทำการเลี้ยงเมล็ดของไผ่ซาง (*Dendrocalamus strictus* Nees) บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น $3x10^{-5}$ โมลาร์ (6.6 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีการ

พัฒนาไปเป็นคัลลัส และเมื่อย้ายลงเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น $3x10^{-5}$ โมลาร์ (6.6 มิลลิกรัมต่อลิตร) Kn ความเข้มข้น $3x10^{-6}$ โมลาร์ (0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร) IBA ความเข้มข้น $2x10^{-6}$ โมลาร์ (0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ polyvinylpyrrolidone (PVP) 250 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดต้น 2-5 เท่า ทุกๆ 5 สัปดาห์ ชักนำให้เกิดรากโดยเลี้ยงในที่มืดบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น $3x10^{-6}$ โมลาร์ (0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร) และ IBA ความเข้มข้น $2x10^{-6}$ โมลาร์ (0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร) เมื่อย้ายออกปลูกมีชีวิตรอด 80 เปอร์เซ็นต์

ยุพิน และคณะ (2542) ทำการเพาะเมล็ดไผ่ตงเขียว (*Dendrocalamus asper* Backer) บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร นำต้นที่ได้มาเพิ่มปริมาณยอดในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร จนได้ยอดจำนวนมาก แบ่งกลุ่มของยอดเป็น 3 ยอดต่อกลุ่ม เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าให้ปริมาณยอดมากที่สุด คือ 9.1 ยอด ในเวลา 15 วัน ส่วนการชักนำให้เกิดรากนั้นใช้ 3 ยอดต่อกลุ่ม พบว่า ไผ่มีเปอร์เซ็นต์การเกิดรากดีที่สุด 90 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว จากนั้นทำการปรับสภาพต้นไม้ในขวดเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน แล้วย้ายต้นกล้าออกปลูกและคลุมด้วยถุงพลาสติกเป็นเวลา 30 วัน ต้นไผ่มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเฉลี่ย 99.3 เปอร์เซ็นต์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ลิขสิทธิ์

Yeh และ Chang (1987) พบว่า กระบวนการชักนำให้เกิดต้นจากคัลลัสที่ได้จากการเลี้ยงไซโกตของไผ่ Taiwan giant bamboo (*Sinocalamus latiflora* (Munro) McClure) ประสบผลสำเร็จโดยการชักนำให้เกิดคัลลัสบนอาหารสูตร MS ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร polyvinylpyrrolidon 250 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ ต่อมาย้ายคัลลัสเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมสามารถพัฒนาไปเป็นต้นอ่อนและเจริญเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้บนอาหารสูตร MS ที่มี 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.6 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อช่อดอก

Lin และคณะ (2003) ทดลองนำส่วนช่อดอกของไผ่ *Bambusa edulis*, *B. odashimae* มาชักนำให้เกิดยอดบนอาหารสูตร MS ที่เติม TDZ ความเข้มข้น 0.5 ไมโครโมล (0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร) และน้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ และพัฒนาจนเกิดดอก จากการทดลองพบว่า cytokinins สามารถชักนำให้เกิดดอก ขณะที่ NAA มีผลต่อการชักนำให้เกิดราก และไม่มีผลต่อขนาดของดอก เมื่อออกดอกแล้วสามารถมีชีวิตรอดและเจริญได้เป็นปกติ

2.7 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อน

Huang และ Murashige (1983) ได้ทดลองเลี้ยงปลายยอดที่มีใบอ่อนขนาด 2-5 มิลลิเมตร จากตาข้างของไผ่ 4 ชนิด คือไผ่ Giant Timber (*Bambusa oldhamii* Morro, *B. hirose*), ไผ่ Hedge [*B. miltiplex* (Loureiro) Reauschell, *B. glaucescens*], ไผ่ *Sasa pygmaea* (Miquel) E.G. Camus, ไผ่ *Pleioblastus pygmaeus* และไผ่ Ren Mian zhu (*P. aurea*) บนอาหารที่มีเกลือของธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรองของ MS วิตามินและไกลซีนตามสูตรของ White น้ำตาล 3 เปอร์เซ็นต์ และวุ้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ ที่ pH 5.7 เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ภายในสภาพมืดตลอดเวลา พบว่า 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการชักนำให้ใบอ่อนเกิดคัลลัส และคัลลัสสามารถเจริญเติบโตได้ถึง 300 มิลลิกรัม ภายในระยะเวลา 4 สัปดาห์ ส่วนออกซินชนิดอื่นๆ คือ IAA หรือ NAA ไม่สามารถชักนำให้ใบอ่อนเกิดคัลลัสได้ โดยเนื้อเยื่อจะเกิดสีน้ำตาลและตายในที่สุด สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินไม่มีอิทธิพลต่อการชักนำให้เกิดคัลลัส ส่วนวิตามินที่มีความสำคัญต่อการเกิดคัลลัส คือ Thiamine HCl ส่วน nicotinic acid ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของคัลลัสแต่มีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อเยื่อ

นิ่มนวล (2528) นำเนื้อเยื่อส่วนใบอ่อนของไผ่สีสุก (*Bambusa blumeana*) มาชักนำให้เกิดคัลลัสได้ภายใน 4 สัปดาห์ บนอาหารสังเคราะห์สูตร woody plant (WPM) ของ McCown และ Lloyd (1981) ที่ระดับความเข้มข้นเกลือของธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง 1 เท่า 2 เท่า 3 เท่า โดยเติมน้ำตาล 2 เปอร์เซ็นต์ วุ้น 0.6 เปอร์เซ็นต์ และ 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เนื้อเยื่อที่เลี้ยงบนอาหารที่มีระดับเกลือ 2 เท่า เกิดคัลลัสมากที่สุดถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เนื้อเยื่อบนอาหารที่มีระดับเกลือแร่ 1 เท่า และ 3 เท่า เกิดคัลลัส 40 เปอร์เซ็นต์ และ 50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Hassan และ Debergh (1987) เลี้ยงส่วนใบของไผ่ *Phyllostachys viridis* (Young) McClure บนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น $9x10^{-6}$ โมลาร์ (2 มิลลิกรัมต่อลิตร) เกิดคัลลัส ภายใน 4-5 สัปดาห์ เมื่อย้ายลงเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารเร่งการเจริญเติบโต คัลลัสพัฒนาไปเป็นต้น ภายใน 2 สัปดาห์ และย้ายปลูกลงแปลงได้สำเร็จ

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ลิขสิทธิ์

บทที่ 3

อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง

1. อุปกรณ์และสารเคมี

1.1 พืชทดลอง

ไผ่รวก (*Thyesostachys siamensis* Ganble.)

ส่วนของพืชที่ใช้ทดลอง ส่วนข้อจากกิ่งแขนง

สถานที่เก็บพืชทดลอง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร จังหวัดนครปฐม

1.2 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

1.2.1 สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบของอาหารสังเคราะห์สูตร

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

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

1.2.2 สารเคมีควบคุมการเจริญเติบโต

- N^6-Benzyladenine (BA)
- Kinetin (Kn)
- 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)
- Indole-3-butylric acid (IBA)
- 1-Naphthaleneacetic acid (NAA)

1.3 สารเคมีที่ใช้ฆ่าเชื้อ

- Ethyl alcohol 95 เปอร์เซ็นต์
- ไฮเตอร์ (Haiter)
- Tween 20

1.4 เครื่องมือ

1.4.1 อุปกรณ์และวัสดุสำหรับใช้เตรียมอาหาร

- เครื่องชั่งแบบละเอียดและหยาบ
- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง
- หม้อนึ่งความดันไอ
- กระบอกตวง
- ปิเปต
- ช้อนตักสารเคมี
- บีกเกอร์ขนาดต่างๆ
- ภาชนะบรรจุอาหารพร้อมฝาปิด
- แท่งแก้ว
- ขวดรูปชมพู่ขนาดต่างๆ

1.4.2 อุปกรณ์และวัสดุสำหรับตัดและถ่ายเนื้อเยื่อ

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

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

2. วิธีการทดลอง

2.1. การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การแพร่กระจายและนิเวศวิทยาของไผ่รวก

การศึกษาจากตัวอย่างแห้งไผ่ในพิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา (BKF) และพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร (BK) และตัวอย่างไผ่ในธรรมชาติโดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

2.1.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

2.2.1.1 บันทึกความสูงของต้น ความสั้น- ยาวของปล้อง ขนาดความโตของลำ สีของลำต้นและการเรียงตัวของเหง้า

2.2.1.2 ศึกษาลักษณะและส่วนประกอบของใบ รูปใบ ปลายใบ ขอบใบ โคนใบ ความกว้างและความยาวของใบ สีใบ สิ่งปกคลุมใบ (indumentum)

2.2.1.3 ศึกษาลักษณะและส่วนประกอบของกาบหุ้มลำ สีของกาบหุ้มลำ ความกว้างและความยาวของกาบหุ้มลำ

2.2.1.4 ศึกษาลักษณะของตาข้างและการแตกกิ่งจากตาข้าง

2.2.1.5 ศึกษาชนิด ลักษณะและส่วนประกอบของช่อดอกและดอก รูปดอก การเรียงของกลีบ ช่อดอก วงเกสรเพศผู้และเพศเมีย

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

2.2.1.6 ศึกษาลักษณะของหน่ออ่อน สีกาบ สีหน่อ สิ่งปกคลุมกาบ

2.2.2 ถิ่นที่อยู่และการแพร่กระจาย

โดยศึกษาข้อมูลจากเอกสารและบันทึกข้อมูลที่ปรากฏบนชิ้นพรรณไม้แห้งที่เก็บไว้ในพิพิธภัณฑ์พืช

2.2 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่รวก

2.2.1 การศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของเนื้อเยื่อเริ่มต้นสำหรับการเพาะเลี้ยง

นำส่วนข้อจากกิ่งแขนงไผ่รวก ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.4-0.8 เซนติเมตร ยาว 4 เซนติเมตร ล้างด้วยน้ำยาล้างจานซันไลต์ ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และน้ำเปล่าให้สะอาด จุ่มข้อในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที โดยเขย่าเบาๆทุก 1 นาที ย้ายข้อลงในสารละลายไฮเตอร์ (Haiter) ที่ความเข้มข้น 10-15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5-10 นาที โดยทำการฟอกครั้งเดียวหรือสองครั้ง เขย่าเบาๆ ทุก 1 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งๆละ 5 นาที แล้วนำข้อมาตัดปลายทั้ง 2 ด้านให้มีความยาวข้อ 2 เซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติมผงวุ้น (Bacteriological agar) 5.8 กรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ปรับความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 5.7 ด้วยสารละลาย Potassium hydroxide หรือ Hydrochloric acid ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล นึ่งฆ่าเชื้ออาหารด้วยหม้อนึ่งความดันไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำไปเลี้ยงในสภาพที่มีความเข้มแสงประมาณ 35-40 $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$ อุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 สัปดาห์

การบันทึกผลการทดลอง

1. เปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อของส่วนข้อที่ทำการฟอกฆ่าเชื้อโดยวิธีการต่างๆในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน

2. วิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติโดย Duncan’s new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

2.2.2 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อ

นำข้อไผ่รวกที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.4-0.8 เซนติเมตร ยาว 4 เซนติเมตร ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวส่วนข้อ ทำการตัดส่วนปลายทั้ง 2 ด้าน ให้มีความยาว 2 เซนติเมตร จากนั้นนำมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และผงวุ้น 5.8 กรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ปรับความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 5.7 ด้วยสารละลาย Potassium hydroxide หรือ Hydrochloric acid ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล นึ่งฆ่าเชื้ออาหารด้วยหม้อนึ่งความดันไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำไปเลี้ยงในสภาพที่มีความเข้มแสงประมาณ 35-40 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ อุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส การทดลองนี้ประกอบด้วยอาหาร 5 สูตร ทำการทดลองสูตรละ 10 ซ้ำ เก็บผลการทดลองหลังทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์

การบันทึกผลการทดลอง

1. เปอร์เซ็นต์ของชิ้นส่วนข้อที่เกิดยอดจากตาข้าง
2. จำนวนยอดที่เกิดต่อตาข้าง
3. ความสูงของยอด
4. ลักษณะการเจริญเติบโตของยอด
5. วิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติโดย Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

2.2.3 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากกลุ่มยอด

นำยอดจากส่วนข้อ ที่มีความสูงประมาณ 2.5 เซนติเมตร ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการทดลองที่ 2.2.2 มาตัดแยกเป็นกลุ่มละ 3 ยอด เลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ดัดแปลง 6 สูตร ดังนี้

สูตรที่ 1 MS

สูตรที่ 2 MS + BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 3 MS + BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 4 MS + BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 5 MS + BA 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 6 MS + BA 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

การทดลองนี้ประกอบด้วยอาหาร 6 สูตร แต่ละสูตรเติมน้ำมะพร้าว (Coconut water) 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ทำการทดลองสูตรอาหารละ 10 ซ้ำ นำไปเลี้ยงในสภาพที่มีความเข้มแสงประมาณ 35-40 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ อุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 2 สัปดาห์

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

ทำการเลี้ยงในสภาพของอาหารที่แตกต่างกัน 3 ประเภท คือ

2.1 อาหารกึ่งแข็ง โดยเติมผงวุ้น (Agar powder; Bacteriological agar) 6.2 กรัมต่อลิตร

2.2 อาหารเหลวสภาพนิ่ง

2.3 อาหารเหลวสภาพเขย่า โดยการเขย่าแบบวงกลมที่ 60 รอบต่อนาที

การบันทึกผลการทดลอง

1. จำนวนยอดทวีคูณที่ระยะเวลา 2, 4, 6 และ 8 สัปดาห์

2. ลักษณะการเจริญเติบโตของยอด

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

2.2.4 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลสมต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากกลุ่มยอด

นำยอดจากส่วนข้อ ที่มีความสูง 1.0-1.5 เซนติเมตร ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการทดลองที่ 2.2.2 มาตัดแยกเป็นกลุ่มละ 3 ยอด ย้ายเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง เพื่อชักนำให้เกิดคัลลัส บนสูตรอาหารต่างๆ 13 สูตร ดังนี้

สูตรที่ 1 MS

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 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 4 MS + 2,4-D 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 5 MS + 2,4-D 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 6 MS + 2,4-D 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 7 MS + 2,4-D 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 8 MS + 2,4-D 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 9 MS + 2,4-D 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 10 MS + 2,4-D 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 11 MS + 2,4-D 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 12 MS + 2,4-D 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 13 MS + 2,4-D 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + Kn 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

การทดลองนี้ประกอบด้วยสูตรอาหาร 13 สูตร แต่ละสูตรเติมซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น (gelrite) 2 กรัมต่อลิตร ทำการทดลองสูตรละ 10 ซ้ำ โดยใช้ 3 ยอด ต่อ 1 ขวด เป็น 1 ซ้ำ เลี้ยงในสภาพที่มีความเข้มแสงประมาณ 35-40 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ อุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ เปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 4 สัปดาห์

การบันทึกผลการทดลอง

1. เปอร์เซ็นต์ของชิ้นส่วนเริ่มต้นที่เกิดคัลลัส

2. การเจริญเติบโตของคัลลัสโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง (เซนติเมตร)

3. ลักษณะของคัลลัส

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

หลังจากเสร็จสิ้นการทดลองเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการชักนำให้เกิดคัลลัส แล้วทำการเลี้ยงคัลลัสต่อในสูตรอาหารนั้น เป็นเวลา 24 สัปดาห์ เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2.2.5 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการพัฒนาคัลลัสไปเป็นยอด

นำคัลลัสที่เลี้ยง บนอาหารกึ่งแข็ง MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการทดลองที่ 2.2.4 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2 เซนติเมตร เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ดัดแปลง เพื่อให้คัลลัสเจริญและพัฒนาไปเป็นต้น บนสูตรอาหารต่างๆ 13 สูตร ดังนี้

สูตรที่ 1 MS

สูตรที่ 2 MS + BAP 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 3 MS + BAP 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 4 MS + BAP 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 5 MS + BAP 1.25 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 6 MS + BAP 1.25 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 7 MS + BAP 1.25 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 8 MS + Kn 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 9 MS + Kn 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 10 MS + Kn 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 11 MS + Kn 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 12 MS + Kn 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 13 MS + Kn 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

การทดลองนี้ประกอบด้วยสูตรอาหาร 13 สูตร แต่ละสูตรเติมซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น (gelrite) 2 กรัมต่อลิตร ทำการทดลองสูตรละ 10 ซ้ำ นำไปเลี้ยงในสภาพที่มีความเข้มแสงประมาณ 35-40 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ อุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 สัปดาห์ เปลี่ยนอาหารใหม่ทุก 4 สัปดาห์

การบันทึกผลการทดลอง

1. เปอร์เซ็นต์ของกลุ่มคัลลัสที่เกิดยอดในอาหารสูตรต่างๆ

2. จำนวนยอด

3. ลักษณะของยอด

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

2.2.6 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำยอดให้เกิดราก

นำกลุ่มยอดที่ได้จากการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณ 3 ยอดต่อกลุ่ม จากการทดลองที่ 2.2.3 มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย บนสูตรอาหารต่างๆ 9 สูตร ดังนี้

สูตรที่ 1 1/2 MS

สูตรที่ 2 1/2 MS + NAA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 3 1/2 MS + NAA 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 4 1/2 MS + NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 5 1/2 MS + NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 6 1/2 MS + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 7 1/2 MS + NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 8 1/2 MS + NAA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

สูตรที่ 9 1/2 MS + NAA 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร + IBA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

การทดลองนี้ประกอบด้วยสูตรอาหาร 9 สูตร แต่ละสูตรเติมซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และผงวุ้น (gelrite) 2 กรัมต่อลิตร ทำการทดลองสูตรอาหารละ 10 ซ้ำ นำไปเลี้ยงในสภาพที่มีความเข้มแสงประมาณ 35-40 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ อุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 สัปดาห์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

การบันทึกผลการทดลอง

1. เปอร์เซ็นต์การเกิดรากจากกลุ่มยอด

2. จำนวนรากและความยาวรากจากกลุ่มยอด

3. ลักษณะการเจริญเติบโตของราก

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

บทที่ 4

ผลการทดลอง

1. การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การแพร่กระจายและนิเวศวิทยาของไผ่รวก

จากการศึกษาตัวอย่างในธรรมชาติและตัวอย่างพรรณไม้แห้งไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis* Gamble) จากพิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา (BKF) และพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร (BK) จำนวน 21 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1) ได้ข้อมูลของลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของไผ่รวกและข้อมูลประกอบ ได้แก่ การแพร่กระจายและนิเวศวิทยา ดังนี้

ชื่อ : ไผ่รวก

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Thyrsostachys siamensis* Gamble, Ann. Roy. Bot. Gard. Calcutta. 7 : 59. 1897.

ชื่อพื้นเมือง : ตีโย รวก ไม้รวก ไผ่รวก (ภาคกลาง) ว่าบอบอ แวปั่ง (กะเหรี่ยง แม่ฮ่องสอน) แวบ้าง (กะเหรี่ยง เชียงใหม่) สะลอม (ฉาน แม่ฮ่องสอน) ฮวก (ภาคเหนือ)

วงศ์ : Gramineae (Poaceae)

มหาวิทยาลัยศิลปากร ศูนย์วิทยทรัพยากร

ไผ่รวกเป็นพืชล้มลุกอายุหลายปี (perennial herb) **ลำต้น** (culm) ขึ้นเป็นกอ (sympodial) (รูปที่ 1a) ลำต้นใต้ดินเป็นเหง้า (rhizome) หน่อแตกจากตาที่เหง้าและยืดตัวตั้งตรงหรือเอียงเล็กน้อย (รูปที่ 1b) เจริญเป็นลำ สูง 8-14 เมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร ส่วนโคนต้นตัน มีสีเขียวแกม เทา มีกาบหุ้มลำต้นติดข้อ (node) แน่น มีวงสีขาวใต้ข้อ (รูปที่ 1g) ปล้อง (internode) ยาว 15-30 เซนติเมตร **การแตกกิ่ง** (branching) แตกจากบริเวณข้อกลางลำต้นขึ้นไป (รูปที่ 1d) **กาบหุ้มลำ** (culm sheath) ประกอบด้วย กาบและใบยอดกาบ ใบยอดกาบซึ่งติดอยู่ตรงปลายกาบหุ้มลำมีสีเขียวแกมม่วงเมื่อแห้งมีสีฟางซีดและบางลงเมื่ออายุมากขึ้นมักหลุดร่วงง่าย ขณะที่กาบซึ่งติดกับลำต้นจะไม่หลุดร่วง (รูปที่ 1h) ส่วนของกาบมีฐานกว้าง 10-20 เซนติเมตร ยาว 20-25 เซนติเมตร ส่วนปลายแคบสอบเข้าไปถึง 2.5 เซนติเมตร กาบหุ้มลำด้านนอก (รูปที่ 1f) มีขนปกคลุม (รูปที่ 1i) และกาบหุ้มลำด้านใน (รูปที่ 1e) มีผิวเรียบ เป็นมัน **กระจัง** หรือ **ลิ้นกาบ** (ligule) พบได้ทั้งกาบหุ้มลำและกาบใบ มีขนาดสั้นมากเป็นครุยติดกับแผ่นกาบและใบยอดกาบ **ครีบกาบ** (leaf auricle) ไม่มีหรืออาจมีขนาดเล็กมาก **ใบ** (leaf) ประกอบด้วย แผ่นใบ (blade) และกาบใบ (leaf sheath) (รูปที่ 1j) แผ่นใบรูปหอก กว้าง 0.5-1.2 เซนติเมตร ยาว 6-15 เซนติเมตร ขอบใบหยักคล้ายฟันเลื่อย (รูปที่ 1p) เส้นใบ

เรียงตามความยาวของใบ ด้านหลังใบมีขนปกคลุม (รูปที่ 1k) ส่วนด้านท้องใบไม่มีมีขนปกคลุม (รูปที่ 1m) ฐานใบแหลม (รูปที่ 1n) เชื่อมติดกาบใบซึ่งกว้าง 0.2-0.3 เซนติเมตร ยาว 3.5-5.0 เซนติเมตร **หน่ออ่อน** (young shoot) สีเขียวแกมม่วงอ่อน กาบหน่ออ่อน รูปไข่กว้าง (broad ovate) กว้าง 5-8 เซนติเมตร ยาว 7-14 เซนติเมตร สีเขียวอ่อน กาบเหยียดตรง มีขนสีขาวบนกาบ (รูปที่ 1c) **ช่อดอก** (inflorescences) เกิดที่ซอกใบหรือส่วนปลายกิ่ง เป็นกระจุก มีใบประดับ 2-3 ใบ ที่กิ่งหลักและกิ่งแขนง **กลุ่มดอก** (spikelet) มีหลายกลุ่ม (รูปที่ 1q) ที่โคนสุดของกลุ่มดอกมี **กลีบหุ้ม** (glume) ปกติมี 2 กลีบ คือ **กลีบหุ้มดอก** (lemma) และ**กลีบรอง** (palea) ดอกย่อยยาว ประมาณ 17 มิลลิเมตร ก้านดอกสั้น ปกติเป็นดอกสมบูรณ์เพศแต่พบดอกที่ไม่สมบูรณ์เพศได้ **เกสรเพศผู้** (Stamen) มี 6 อัน มีก้านชูเกสร (filament) ติดกับ**อับเรณู** (anther) **เกสรเพศเมีย** (pistil) 1 อัน มีขนปกคลุมที่ปลายยอดเกสรเพศเมีย (stigma) รูปคล้ายถ้วยติดกับก้านชูเกสร (style) ผิวเกลี้ยง **รังไข่** (ovary) รูปลูกข่าง **ผล** รูปทรงกระบอกหรือมีส่วนปลายผลคล้ายปากนก ยาว 5 มิลลิเมตร กว้าง 2.5 มิลลิเมตร สีเหลืองผิวเกลี้ยง (รูปที่ 1r)

นิเวศวิทยา ขึ้นบนภูเขาหรือพื้นที่สูง มีความลาดชัน น้ำไม่ขัง ดินมีธาตุอาหารต่ำ ในประเทศไทยพบขึ้นตามป่าดิบชื้น ป่าผสมผลัดใบและป่าสัก ทางภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคกลางบางส่วนพบในป่าดิบเขา พบที่ความสูง 100-400 เมตร จากระดับน้ำทะเล (ข้อมูลสรุปจากตัวอย่างแห้งใน ตารางที่ 1) ที่ปริมาณน้ำฝน 800-1000 มิลลิเมตร (Dransfield และ Widjaja 1997)

การแพร่กระจายพันธุ์ สระบุรี (ภาคกลาง) เลย (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ) ตราด (ตะวันออก) กาญจนบุรี เพชรบุรี ประจวบคีรีขันธ์ ราชบุรี ตาก (ภาคตะวันตก) สตูล นครศรีธรรมราช (ภาคใต้) (ข้อมูลสรุปจากตัวอย่างแห้งใน ตารางที่ 1)

มหาวิทยาลัยศิลปากร ศูนย์วิทยทรัพยากร

รูปที่ 1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis* Gamble)

a ลักษณะวิสัย

b เหง้า

c หน่อ

d การแตกกิ่ง

e กาบหุ้มลำด้านใน

f กาบหุ้มลำด้านนอก

g ลำไผ่ส่วนปล้อง

h ส่วนประกอบของกาบหุ้มลำ แสดง กระจังหรือลิ้นกาบและครีบกาบ

i กาบหุ้มลำด้านนอก แสดง สิ่งปกคลุมกาบ

j ใบ

k ลักษณะหลังใบ แสดงสิ่งปกคลุม

m ผิวท้องใบ

n ฐานติดกับกาบใบ

p ขอบใบ

q ช่อดอก

r ผล

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางที่ 1 แสดงข้อมูลตัวอย่างแห้งไผ่รวกอ้างอิงในพิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา (BKF) และพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพฯ (BK) ที่ศึกษา

ชื่อผู้เก็บและหมายเลข (Collector number)	หมายเลขตัวอย่างแห้ง (Herbarium number)	วันที่เก็บ	นิเวศวิทยา	สถานที่เก็บ
C. penklai (No. 254)	BKF 37004 (SN) 067361	20 December 1961	limestone hill	South West, Kanchanaburi Provinc, Nong Deang
K. Larsen (No. 9292)	BKF 27279 (SN) 067364	26 March 1963	dry deciduous forest, 400 m.	South West, Sai Yok, Kanchanaburi Provinc
Dee (No. 904)	BKF 17095 (SN) 067359	26 April 1957	Phukradung.	Wangsaphung, Loei Provinc
D. bunpheng (No. 489)	BKF 6800 (SN) 067358	22 February 1952	slope of hill	North East, Loei, Phu Kradung, Loei Provinc
T. shimizu (No. 18013)	BKF 082099 (SN) 067366	7 October 1979	dry limestone hill, 100-400 m.	Central, Khao Talu, Na Pra Larn District, Saraburi Provinc
Preecha (No. 417)	BKF 5499 (SN) 067363	9 April 1992	limestone hill	Thasoa, Sai Yok, Kanchanaburi Provinc
B.S .(No. 1093)	BKF 32413 (SN) 067362	19 November 1964	limestone hill	South West, Prachuapkhirikham Provinc
C. phengklai (No. 12138)	BKF 128066 (SN) 127238	October 1999	limestone	La-ngu, Koh Kabeng, Satun Provinc
Plernchit (No. 713)	BKF 10203 (SN) 067356	8 October 1954	Cultivation in the village, 300 m	Kiriwong, Nakawnsritamarat Provinc
T. smitinand and C. phengklai (No. 8663)	BKF 42032 (SN) 067355	5 March 1965	limestone hill, 150 m.	Central, Saraburi, Khao Khaow
C. phengklai (No. 13019)	BKF 130118 (SN) 130021	22 October 2543	Tuffted and erect bamboo, 0.80 m.	Koh Kut, Trat Provinc
C. phengklai (No. 12204)	BKF 128030 (SN) 127194	13 April 2000	Mixdeciduous forest	Lum-e-su, Kanchanaburi Provinc

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

ตารางที่ 1 (ต่อ) แสดงข้อมูลตัวอย่างแห้งไผ่รวกอ้างอิงในพิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา (BKF) และพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพฯ (BK) ที่ศึกษา

ชื่อผู้เก็บและหมายเลข (Collector number)	หมายเลขตัวอย่างแห้ง (Herbarium number)	วันที่เก็บ	นิเวศวิทยา	สถานที่เก็บ
C. phengklai (No. 13628)	BKF 134133 (SN) 136494	9 April 2002	bamboo (cultivated), under 0.80 m.	Koh Kut, Aow Salad, Trat Provinc
P. puudja (No. 1065)	BKF 137558 (SN) 141121	14 March 2002	in dry deciduous mixed bamboo forest	Huai Saai, Cha-am, Petchaburi Provinc
P. suvarnakoses (No. 2104)	BKF 31491 (SN) 067360	15 July 1963	slop of the hill, most with group distribution	South West, Kanchanaburi Provinc
T. shimizu (No. 18005)	BKF 127184 (SN) 125822	6 October 1989	dry limestone hill, 100-400 m.	Khao Talu, Na Pra Larn, Central Saraburi Provinc
C. phengklai (No. 13928)	BKF 138329 (SN) 142136	8 April 2003	Tuffted bamboo (cultivated) under 20 m.	Ra-ngu, Koh rinde, Satun Provinc
A.F.G. Kerr (No. 10104)	BK 28897 (SN) 252139	30 December 1926	limestone hill, 50 m.	Kanchanaburi Provinc
J.F. Maxwell (No. 74-647)	BK 51688 (SN) 252146	30 June 1974	Sahm Lahn forest, 250 m.	Muang District, Saraburi Provinc
เพลินจิตร (No. 470)	BK 32539 (SN) 252143	December 2502	on the bank of the river	The Bhumipol Dam, Tag Provinc
บุญนาค (No. 645)	BK 32864 (SN) 252138	May 1959	in dry deciduous forest	The Bhumipol Dam, Tag Provinc

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่รวก

2.1 การศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของเนื้อเยื่อเริ่มต้นสำหรับการเพาะเลี้ยง

นำส่วนข้อจากกิ่งแขนงไผ่รวก ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.4-0.8 เซนติเมตร ยาว 4 เซนติเมตร ล้างด้วยสบู่เหลว หรือน้ำยาล้างจานซันไลต์ ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และน้ำเปล่าให้สะอาด จุ่มข้อในแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที โดยเขย่าเบาๆทุก 1 นาที ย้ายข้อลงในสารละลายไฮเตอร์ (Haiter) ที่ความเข้มข้น 10-15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5-10 นาที โดยทำการฟอกครั้งเดียว หรือ สองครั้ง เขย่าเบาๆ ทุก 1 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้งๆละ 5 นาที แล้วนำข้อที่ได้มาตัดปลายแบบขนานทั้ง 2 ด้าน ให้มีความยาว 2 เซนติมตร นำข้อที่ได้มาเลี้ยงลงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2 สัปดาห์ พบว่า การฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวชิ้นส่วนของข้อไผ่รวก ด้วยสารละลายไฮเตอร์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที ให้ผลการปลอดเชื้อมากที่สุดในช่วงเดือนมีนาคม เมษายนและพฤษภาคม คือ 82.0, 76.1 และ 78.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 2) และในช่วงเดือนเมษายน พฤษภาคม มิถุนายน กรกฎาคม และกุมภาพันธ์ ให้ผลในการปลอดเชื้อ 63.3-76.1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ P = 0.05 ส่วนในเดือนตุลาคม ให้ผลในการปลอดเชื้อเพียง 46.6 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการใช้สารละลายไฮเตอร์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ เพียงครั้งเดียว หรือตามด้วย 5 หรือ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที ในช่วงเดือนมีนาคมและกรกฎาคม ให้ผลในการปลอดเชื้อต่ำที่ 32.5-46.6 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2)

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ลิขสิทธิ์

ตารางที่ 2 ผลการปลอดเชื้อของชิ้นส่วนข้อเมื่อทำการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวโดยใช้สารละลายไฮเตอร์ที่ความเข้มข้น เวลา และช่วงเวลาที่แตกต่างกัน

เดือนที่ทำการทดลอง	สารฟอกฆ่าเชื้อ	การฟอกฆ่าเชื้อ				จำนวนยอดทั้งหมด	จำนวนยอดที่ปลอดเชื้อ	% การปลอดเชื้อ[1/]
		ครั้งที่ 1		ครั้งที่ 2				
		ความเข้มข้น (%)	เวลา (นาที)	ความเข้มข้น (%)	เวลา (นาที)			
มี.ค.	Haiter	10	10	-	-	50	41	82.0 d
เม.ย.	Haiter	10	10	-	-	230	175	76.1 cd
พ.ค.	Haiter	10	10	-	-	80	63	78.7 cd
มิ.ย.	Haiter	10	10	-	-	40	27	67.5 c
		15	10	-	-	225	105	46.6 b
		15	10	5	10	106	40	37.7 a
ก.ค.	Haiter	10	10	-	-	75	50	66.6 c
		15	10	10	10	40	13	32.5 a
ต.ค.	Haiter	10	10	-	-	45	21	46.6 b
ก.พ.	Haiter	10	10	-	-	30	19	63.3 c

[1/] ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $P = 0.05$ วิเคราะห์โดย Duncan's New Multiple Range Test

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

2.2 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อ

นำข้อไผ่รวกที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.4-0.8 เซนติเมตร ยาว 4 เซนติเมตร ที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวส่วนข้อมาตัดส่วนปลายทั้ง 2 ด้าน ให้มีความยาว 2 เซนติเมตร จากนั้นนำข้อมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA ที่ความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 7.5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า สูตรอาหารทุกสูตรมีการเกิดยอดจากตาข้างที่ข้อ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยสูตรอาหารที่เติม BA ที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเกิดยอดมากที่สุด เฉลี่ย 13.50 ยอดต่อข้อ และมีความสูงเฉลี่ย 2.53 เซนติเมตร (ตารางที่ 3, รูปที่ 2b) ยอดที่ได้มีลักษณะของลำต้นและใบเขียว มีความสูงใกล้เคียงกัน ส่วนข้อที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งที่เติม BA ความเข้มข้น 5, 7.5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่า จำนวนยอดที่ได้และความสูงไม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $P = 0.05$ (ตารางที่ 3) โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 8.9, 9.1 และ 10.1 ยอดต่อข้อ มีความสูงเฉลี่ย 0.76, 0.73 และ 0.68 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และ รูปที่ 2c, 2d และ 2e)

สำหรับข้อที่เลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต มีการเกิดยอดจากตาข้างในปริมาณที่ต่ำเมื่อเปรียบกับข้อที่เลี้ยงบนอาหารที่มีสารละลายควบคุมการเจริญเติบโต โดยมีจำนวนยอดเฉลี่ย 2.8 ยอดต่อข้อ มีความสูงเฉลี่ย 0.39 เซนติเมตร (ตารางที่ 3) ยอดที่แตกออกมาจากข้อโดยทั่วไปมีลักษณะเล็ก สั้น ไม่เจริญเติบโตทางด้านความสูง (รูปที่ 2a) และเมื่อเลี้ยงต่อไปยอดที่แตกออกจากข้อเริ่มมีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลจากยอดจนถึงโคนยอดและตายในที่สุด

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ ลิขสิทธิ์

ตารางที่ 3 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้นต่างๆต่อการเกิดยอดจากตาข้างที่ข้อไผ่รวกที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ความเข้มข้นของ BA (มก./ล.)	การเกิดยอดจากตาข้าง (%)	จำนวนยอดเฉลี่ย /ตาข้าง[1/] (ยอด)	ความสูงยอดเฉลี่ย /ตา ข้าง[1/] (ซม.)
0	100	2.80 a	0.38 a
2.5	100	13.50 d	2.53 d
5.0	100	8.90 b	0.76 bc
7.5	100	9.10 b	0.73 ab
10.0	100	10.10 bc	0.68 ab

[1/] จากการทดลอง 10 ซ้ำ, ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $P = 0.05$ วิเคราะห์โดย Duncan's New Multiple Range Test

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

รูปที่ 2 ผลของ BA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเกิดยอดของไผ่รวกที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS เป็นเวลา 4 สัปดาห์

a อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA 0 มิลลิกรัมต่อลิต

b อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

c อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

d อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA 7.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

e อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.3 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากกลุ่มยอด

นำกลุ่มยอดจากส่วนข้อ ที่มีความสูงประมาณ 2.5 เซนติเมตร ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการทดลองที่ 2.2.2 มาตัดแยกเป็นกลุ่มละ 3 ยอด เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA 0-10 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการเลี้ยงในสภาพของอาหารที่แตกต่างกัน คือ อาหารกึ่งแข็ง อาหารเหลวสภาพนิ่ง และอาหารเหลวสภาพเขย่า (60 รอบต่อนาที) เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เปลี่ยนอาหารทุก 2 สัปดาห์ พบว่า BA ความเข้มข้นที่สูงขึ้นส่งเสริมการเพิ่มจำนวนยอดในอาหารเหลวทั้งสภาพเขย่าและสภาพนิ่ง เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนยอดที่ได้จากอาหารกึ่งแข็งอย่างมีนัยสำคัญที่ P = 0.05 สำหรับกลุ่มยอดที่เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS6) ให้ผลในการเกิดยอดทวีคูณของไผ่รวกมากที่สุด คือ 5.1, 23.3 และ 36.1 ยอด ในอาหารกึ่งแข็ง (รูปที่ 3 a6) อาหารเหลวสภาพนิ่ง (รูปที่ 3 b6) และอาหารเหลวสภาพเขย่า (รูปที่ 3 c6) ตามลำดับ ในเวลา 8 สัปดาห์ (ตารางที่ 4) จำนวนยอดที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารเหลวสภาพนิ่งและอาหารเหลวสภาพเขย่าที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ P = 0.05 ในอาหารที่เติม BA ที่ความเข้มข้น 0-5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS1-MS5) เมื่อเก็บผลในสัปดาห์ 2, 4 และ 6 สำหรับอาหารเหลวสภาพนิ่งให้จำนวนยอดทวีคูณมากกว่าอาหารเหลวสภาพเขย่าในอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เท่ากันในสัปดาห์ที่ 2 โดยให้จำนวนยอด 7.2 และ 4.4 ยอด ในอาหารเหลวสภาพนิ่งและอาหารเหลวสภาพเขย่า ตามลำดับ เวลาในสัปดาห์ที่ 8 อาหารเหลวสภาพเขย่าให้จำนวนยอดทวีคูณสูงกว่าอาหารเหลวสภาพนิ่งอย่างมีนัยสำคัญที่ P = 0.05 โดยเกิดยอดทวีคูณจำนวน 18.0, 23.3, 25.1 และ 36.1 ยอด ในอาหารเหลวสภาพนิ่งที่เติม BA ความเข้มข้น 5.0 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารเหลวสภาพเขย่าที่เติมที่เติม BA ความเข้มข้น 5.0 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4, รูปที่ 3 b5, 3 b6, 3 c5 และ 3 c6)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4 ผลของ BA ร่วมกับ Kn ต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณ จากกลุ่มยอดที่ประกอบด้วย 3 ยอดต่อกลุ่ม ของไผ่รวก ที่เลี้ยงในอาหาร MS สภาพต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

สภาพของอาหาร	สูตรอาหาร (MS)	ความเข้มข้น (มก./ล.)		การชักนำให้เกิดยอดทวีคูณ (ยอด)[1/] เวลา (สัปดาห์)			
		BA	Kn	2	4	6	8
อาหารกึ่งแข็ง	MS1	0	0	0 a	0 a	0 a	0 a
	MS2	0.1	0.5	0 a	0 a	0 a	0 a
	MS3	0.5	0.5	1.0 a	1.4 a	1.9 a	2.2 a
	MS4	1.0	0.5	1.4 a	2.0 a	2.6 ab	3.3 a
	MS5	5.0	0.5	1.6 a	2.4 ab	3.3 b	4.3 a
	MS6	10	0.5	1.7 a	2.8 ab	3.7 b	5.1 ab
อาหารเหลวสภาพนิ่ง	MS1	0	0	0.9 a	1.6 a	2.1 ab	2.5 a
	MS2	0.1	0.5	1.8 a	2.7 ab	3.5 b	4.5 a
	MS3	0.5	0.5	3.2 b	5.4 b	7.3 c	9.5 bc
	MS4	1.0	0.5	2.2 ab	5.6 b	8.7 c	12.2 c
	MS5	5.0	0.5	4.7 bc	8.7 bc	12.3 cd	18.0 d
	MS6	10	0.5	7.2 d	13.2 d	18.8 d	23.3 e
อาหารเหลวสภาพเขย่า	MS1	0	0	0 a	0 a	0 a	0 a
	MS2	0.1	0.5	0.6 a	0.7 a	0.7 a	0.7 a
	MS3	0.5	0.5	1.5 a	3.3 ab	4.1 b	4.9 ab
	MS4	1.0	0.5	2.0 a	5.7 b	10.2 c	13.8 cd
	MS5	5.0	0.5	3.5 b	8.8 bc	15.9 d	25.1 efg
	MS6	10	0.5	4.4 bc	11.3 c	18.1 d	36.1 g

[1/] จากการทดลอง 10 ซ้ำ, ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $P = 0.05$ วิเคราะห์โดย Duncan's New Multiple Range Test

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

รูปที่ 3 ผลของ BA และ Kn ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการเกิดยอดทวีคูณของไผ่รวกที่เลี้ยงใน
อาหารสูตร MS สภาพต่างๆ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

อาหารกึ่งแข็งสูตร MS

a1 = MS1 ประกอบด้วย BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

a2 = MS2 ประกอบด้วย BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

a3 = MS3 ประกอบด้วย BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

a4 = MS4 ประกอบด้วย BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

a5 = MS5 ประกอบด้วย BA 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

a6 = MS6 ประกอบด้วย BA 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

อาหารเหลวสภาพนิ่งสูตร MS

b1 = MS1 ประกอบด้วย BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

b2 = MS2 ประกอบด้วย BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

b3 = MS3 ประกอบด้วย BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

b4 = MS4 ประกอบด้วย BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

b5 = MS5 ประกอบด้วย BA 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

b6 = MS6 ประกอบด้วย BA 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

อาหารเหลวสภาพเขย่าสูตร MS

c1 = MS1 ประกอบด้วย BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

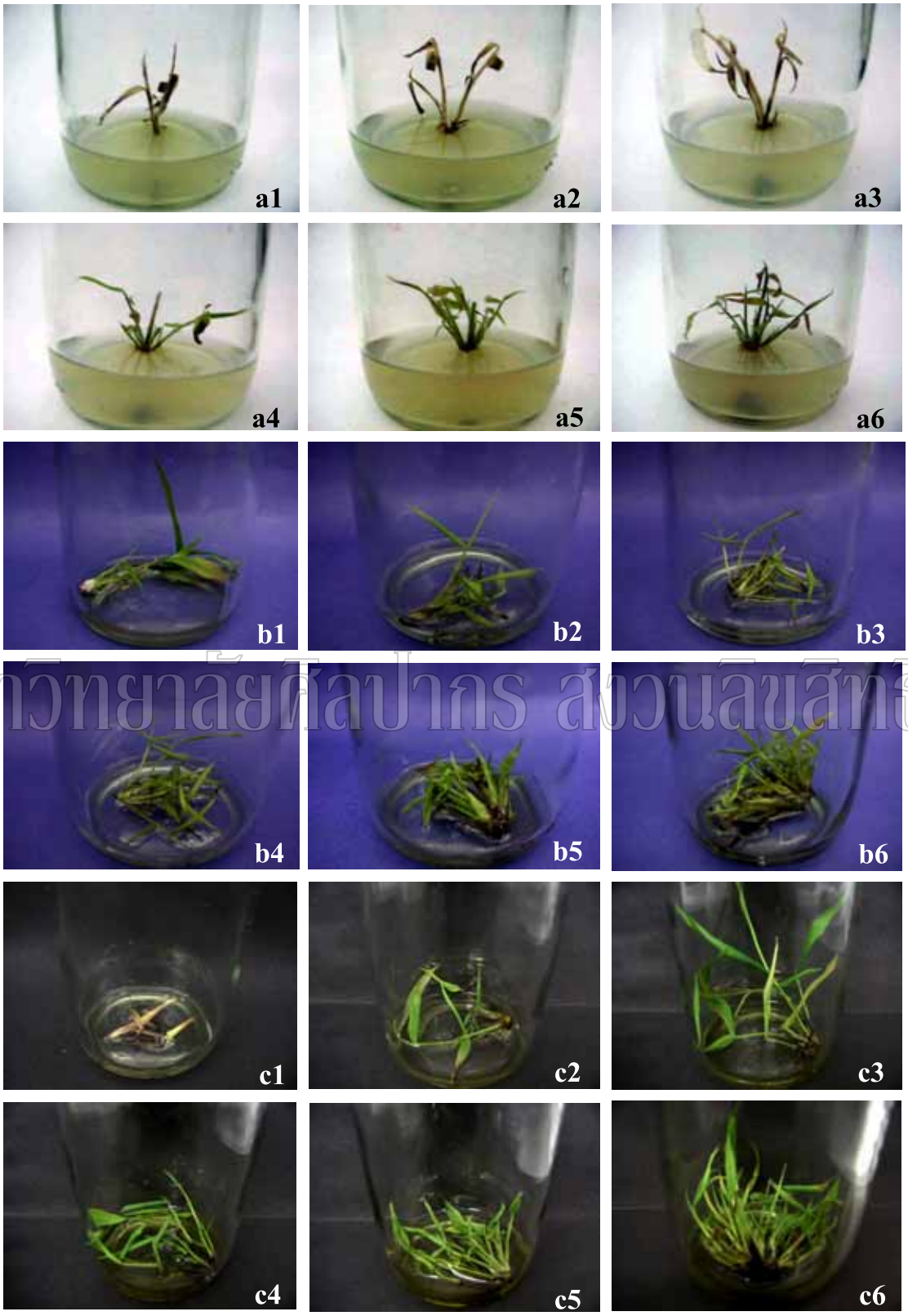
c2 = MS2 ประกอบด้วย BA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

c3 = MS3 ประกอบด้วย BA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

c4 = MS4 ประกอบด้วย BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

c5 = MS5 ประกอบด้วย BA 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

c6 = MS6 ประกอบด้วย BA 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร



มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

2.4 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากกลุ่มยอด

นำกลุ่มยอดที่เจริญจากส่วนข้อ มีความสูง 1.0-1.5 เซนติเมตร ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร จากการทดลองที่ 2.2.2 มาตัดแยกเป็นกลุ่มละ 3 ยอด เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 1.0, 2.5 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.4 และ0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 12 สัปดาห์ เปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ พบว่า ยอดที่เลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D, Kn และ IBA ทุกระดับความเข้มข้น มีการเจริญและพัฒนาไปเป็นคัลลัสอยู่ในช่วง 70-100 เปอร์เซ็นต์ โดยยอดที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kn ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS5) และอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kn ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS2) ให้ขนาดคัลลัสดีที่สุด คือ 0.62 และ 0.54 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 5, รูปที่ 4b และ 4e) คัลลัสมีลักษณะกลมเกาะกลุ่มกันหนาแน่น ขนาดเล็กสีเขียวอ่อน (nodular callus) ซึ่งขนาดคัลลัสไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ P = 0.05 สำหรับอาหารกึ่งแข็งสูตรอื่นๆ คือ MS3-MS4 และ MS6-MS13 ให้ผลในการเกิดคัลลัสที่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ P = 0.05 โดยมีขนาดคัลลัสเฉลี่ย 0.28-0.40 เซนติเมตร (ตารางที่ 5, รูปที่ 4c, 4d, 4f, 4g, 4h, 4i, 4j, 4k, 4l และ 4m) คัลลัสส่วนใหญ่ที่ได้มีลักษณะเหมือนกับคัลลัสที่ได้จากอาหารสูตร MS2 และ MS5 คือ มีลักษณะเกาะกลุ่มกันหนาแน่น ขนาดเล็กสีเขียวอ่อน แต่สำหรับคัลลัสที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kn ความเข้มข้น 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ที่ความเข้มข้น 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS13) เป็นคัลลัสที่เกาะกลุ่มหนาแน่นกลมใหญ่และมีสีน้ำตาล (globular callus) (รูปที่ 4m) และคัลลัสที่เลี้ยงบนอาหารแข็งกึ่งสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kn ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS11) เป็นคัลลัสที่เกาะกลุ่มหนาแน่นเป็นก้อนเหนียวชุ่มน้ำ (mucilaginous callus) (รูปที่ 4k)

กลุ่มยอดที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kn ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS3) และอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kn ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS4) พัฒนาไปเป็นคัลลัสของทั้งสองสูตรนี้มีลักษณะคล้ายคลึงกัน คือ คัลลัสเกาะกลุ่มหนาแน่นและเกิดรากขาว (รูปที่ 4c และ 4d) ส่วนกลุ่มยอด

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

ที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (MS1) พบว่าไม่มีการเจริญเติบโตและพัฒนาไปเป็นคัลลัส (รูปที่ 4a)

ทำการเลี้ยงคัลลัสในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kn ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS5) เป็นเวลา 24 สัปดาห์ เปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ เพื่อให้มีการเพิ่มจำนวนคัลลัสมากพอสำหรับนำไปใช้ในการทดลองชักนำให้เกิดยอดต่อไป

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางที่ 5 ผลของ 2,4-D, Kn และ IBA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากกลุ่มยอดของไผ่รวก ที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์

สูตรอาหาร MS	สารควบคุมการเจริญเติบโต			การเกิดคัลลัส [1/]		
	2,4-D (มก./ล.)	Kn (มก./ล.)	IBA (มก./ล.)	% การเกิดคัลลัส [2/]	ขนาดคัลลัส (ซม.)	ลักษณะคัลลัส [3/]
MS1	0	0	0	0	0 a	-
MS2	1.0	0.5	0.4	90	0.54 cd	NC
MS3	1.0	1.0	0.7	90	0.30 b	NC
MS4	2.5	0.5	0.4	90	0.32 b	NC
MS5	2.5	1.0	0.4	70	0.62 d	NC
MS6	2.5	1.0	0.7	80	0.34 b	NC
MS7	2.5	1.5	0.4	90	0.35 b	NC
MS8	2.5	1.5	0.7	90	0.30 b	NC
MS9	5.0	0.5	0.7	100	0.35 b	NC
MS10	5.0	1.0	0.4	100	0.33 b	NC
MS11	5.0	1.0	0.7	80	0.40 bc	MC
MS12	5.0	1.5	0.4	70	0.30 b	NC
MS13	5.0	1.5	0.7	90	0.28 b	GC

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

[1/] จากการทดลอง 10 ซ้ำ, ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $P = 0.05$ วิเคราะห์โดย Duncan's New Multiple Range Test

[2/] % การเกิดคัลลัส หมายถึง จำนวนกลุ่มยอดที่เกิดคัลลัสคิดเป็นเปอร์เซ็นต์

[3/] ลักษณะของคัลลัส

- = ไม่เกิดคัลลัส

GC = globular callus

NC = nodular callus

MC = mucilaginous callus

รูปที่ 4 ผลของ 2,4-D, Kn และ IBA ความเข้มข้นต่างๆต่อการเกิดคัลลัสจากกลุ่มยอดที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์

a = MS1 ประกอบด้วย 2,4-D 0 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

b = MS2 ประกอบด้วย 2,4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

c = MS3 ประกอบด้วย 2,4-D 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

d = MS4 ประกอบด้วย 2,4-D 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

e = MS5 ประกอบด้วย 2,4-D 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

f = MS6 ประกอบด้วย 2,4-D 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

g = MS7 ประกอบด้วย 2,4-D 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

h = MS8 ประกอบด้วย 2,4-D 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

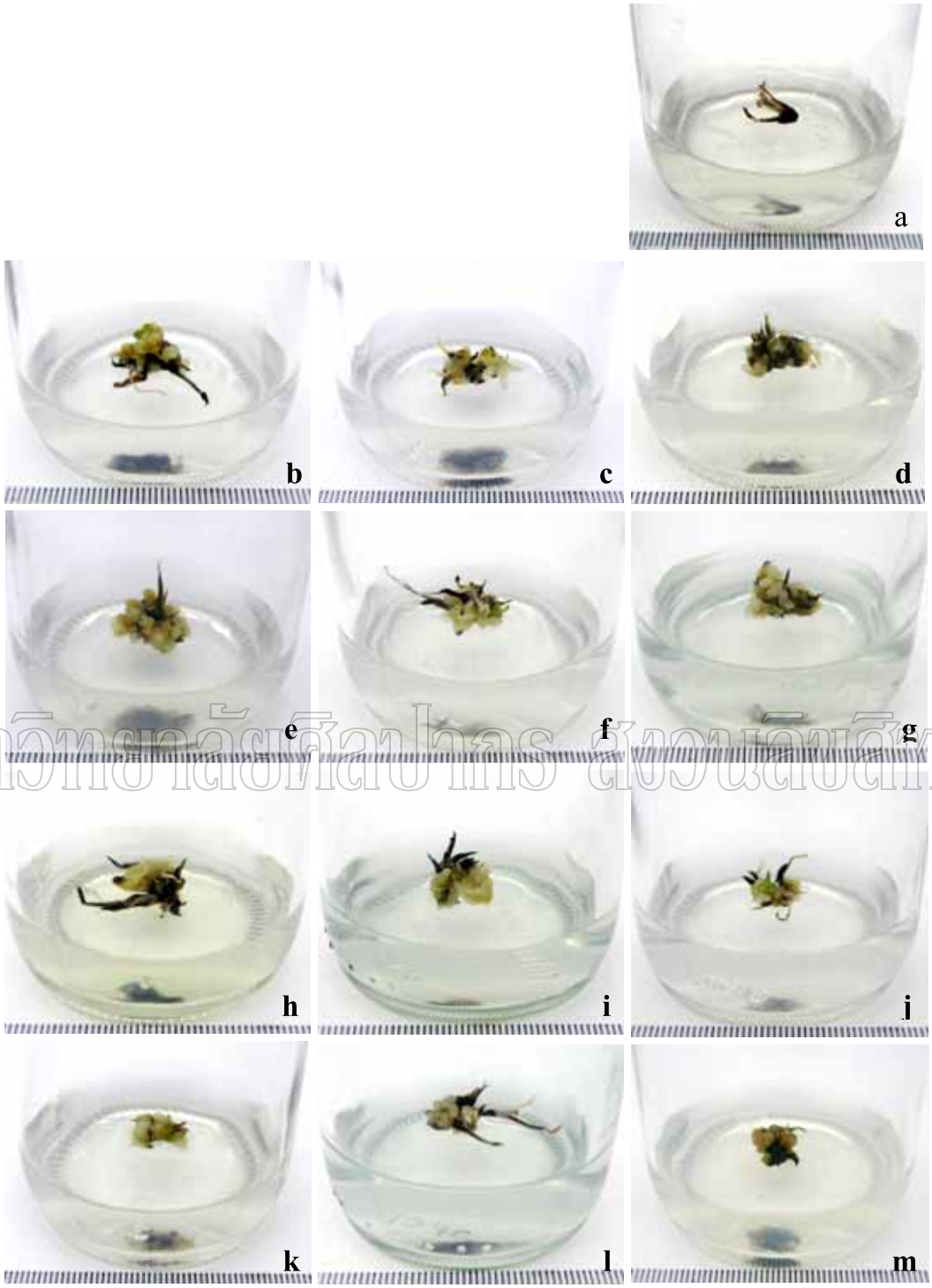
i = MS9 ประกอบด้วย 2,4-D 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

j = MS10 ประกอบด้วย 2,4-D 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

k = MS11 ประกอบด้วย 2,4-D 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

l = MS12 ประกอบด้วย 2,4-D 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร

m = MS13 ประกอบด้วย 2,4-D 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตรKn 1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร



มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

2.5 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการพัฒนาคัลลัสไปเป็นยอด

นำคัลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS5) จากการทดลองที่ 2.2.4 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2 เซนติเมตร มาชักนำให้เกิดต้นโดยเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็ง MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 0-2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn ความเข้มข้น 0-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร IBA และ NAA ความเข้มข้น 0-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ เปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ พบว่า กลุ่มคัลลัสสามารถพัฒนาเป็นยอดบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA, Kn, IBA และ NAA ทุกสูตร 70-100 เปอร์เซ็นต์ โดยเริ่มเกิดกลุ่มยอดเมื่อเลี้ยงบนอาหารเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ และยอดเพิ่มจำนวนมากขึ้นเมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ อาหารที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 1.25-2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS8-MS13) ส่งเสริมการพัฒนาคัลลัสไปเป็นยอดมากกว่าอาหารที่ประกอบด้วย Kn ความเข้มข้น 1.0-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS2-MS7) อย่างมีนัยสำคัญที่ P = 0.05 โดยกลุ่มคัลลัสที่เลี้ยงในอาหารที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS12) ให้ผลการเกิดจำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุดคือ 27.0 ยอดต่อกลุ่มคัลลัส (ตารางที่ 6, รูปที่ 5l) ในเวลา 12 สัปดาห์ ซึ่งจำนวนยอดที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ P = 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนยอดที่ได้จากกลุ่มคัลลัสที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS8, MS9, MS10 และ MS13 (รูปที่ 5h, 5i, 5j และ 5m) ตามลำดับ โดยให้จำนวนยอด 25.2, 26.0, 20.6 และ 26.3 ยอดต่อกลุ่มคัลลัส (ตารางที่ 6) ยอดที่เกิดบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS7 มีลักษณะเป็นยอดที่ใบยังแผ่ไม่กาง ส่วนยอดที่เกิดบนอาหารสูตรอื่นๆ ส่วนใหญ่เป็นยอดที่มีใบแผ่กางแล้ว สำหรับกลุ่มคัลลัสที่เลี้ยงบนอาหารที่ประกอบด้วย Kn ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0-10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว (MS5, MS6, MS7 และ MS11) ให้ผลการเกิดจำนวนยอดรองลงมาเฉลี่ย 9.8-15.8 ยอดต่อกลุ่มคัลลัส (รูปที่ 5e, 5f, 5g และ 5k) สำหรับกลุ่มคัลลัสที่เลี้ยงบนอาหารที่ประกอบด้วย Kn ความเข้มข้น 0-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS0-MS4) ให้ผลการเกิดจำนวนยอดจากกลุ่มคัลลัสน้อยที่สุดเฉลี่ย 0-7.7 ยอดต่อกลุ่มคัลลัส ตามลำดับ (รูปที่ 5a, 5b, 5c และ 5d) จากผลการทดลองพบว่า อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA ร่วมกับ IBA ส่งเสริมให้กลุ่มคัลลัสพัฒนาไปเป็นยอดมากกว่ากลุ่มคัลลัสที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม Kn ร่วมกับ NAA และยอดที่ได้จากอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 1.25-2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ได้กลุ่มยอดที่มีสีเขียว ขึ้น

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ลิขสิทธิ์

หนาแน่นและยอดมีความสูงขนาดใกล้เคียงกัน เมื่อความเข้มข้นของ BA และ IBA เพิ่มสูงขึ้นที่ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้กลุ่มคัลลัสพัฒนาไปเป็นยอดที่มีสีขาวเพิ่มขึ้นโดยจะพบยอดที่มีสีขาว 2.4 และ 40.7 ยอด บนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 1.25 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS10 และ MS13) ตามลำดับ (ตารางที่ 6) สำหรับกลุ่มคัลลัสที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่ากลุ่มคัลลัสไม่มีการพัฒนาไปเป็นยอดแต่เริ่มมีเปลี่ยนแปลงของกลุ่มคัลลัสจากสีขาวหรือสีครีมเป็นสีเขียว (รูปที่ 5a)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ตารางที่ 6 ผลของสารเร่งการเจริญเติบโต IBA, Kn, BA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการพัฒนาคัลลัสไปเป็นยอด ที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์

สูตรอาหาร (MS)	สารเร่งการเจริญเติบโต		การชักนำให้คัลลัสไปเป็นยอด (ยอด)[1/]		
	Kn (มก./ล.)	NAA (มก./ล.)	% ของคัลลัสที่เกิดยอด	ยอดปกติ/กลุ่มคัลลัส	ยอดขาว/กลุ่มคัลลัส
MS1	0	0	0	0 a	0
MS2	1.0	0	100	7.7 abc	0
MS3	1.0	0.7	80	2.6 ab	0
MS4	1.0	1.0	100	3.3 ab	0
MS5	2.0	0	100	11.8 c	0
MS6	2.0	0.7	100	9.8 b c	0
MS7	2.0	1.0	100	12.9 c	0
	BA (มก./ล.)	IBA (มก./ล.)			
MS8	1.25	0	90	25.2 e	0
MS9	1.25	0.7	100	26.0 e	0
MS10	1.25	1.0	90	20.6 de	2.4
MS11	2.5	0	90	15.8 cd	0
MS12	2.5	0.7	90	27.0 e	0
MS13	2.5	1.0	70	26.3 e	40.7

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

[1/] จากการทดลอง 10 ซ้ำ, ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $P = 0.05$ วิเคราะห์โดย Duncan's New Multiple Range Test

% ของคัลลัสที่เกิด หมายถึง กลุ่มคัลลัสที่เกิดยอดในแต่ละสูตร

รูปที่ 5 ผลของ IBA, Kn, BA และ NAA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการพัฒนาคัลลัสไปเป็นยอด ที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS เป็นเวลา 12 สัปดาห์

a = MS1 ประกอบด้วย BAP 0 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn 0 มิลลิกรัมต่อลิตร IBA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

b = MS2 ประกอบด้วย Kn 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

c = MS3 ประกอบด้วย Kn 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

d = MS4 ประกอบด้วย Kn 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

e = MS5 ประกอบด้วย Kn 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

f = MS6 ประกอบด้วย Kn 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

g = MS7 ประกอบด้วย Kn 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ NAA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

h = MS8 ประกอบด้วย BAP 1.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

i = MS9 ประกอบด้วย BAP 1.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

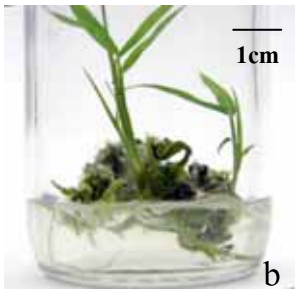
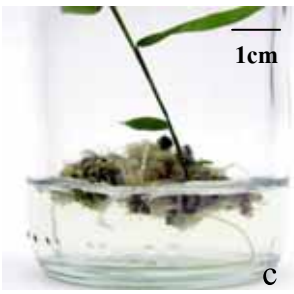
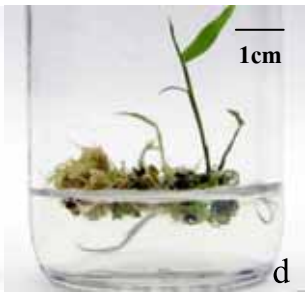
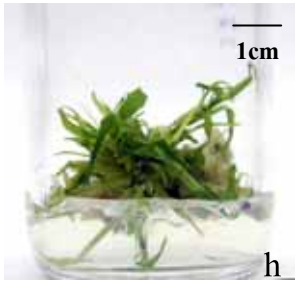
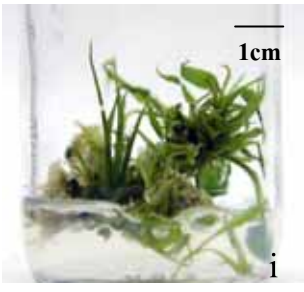
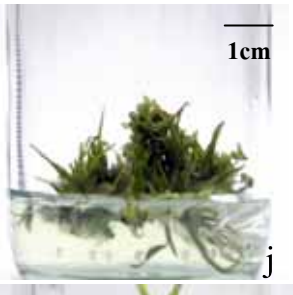
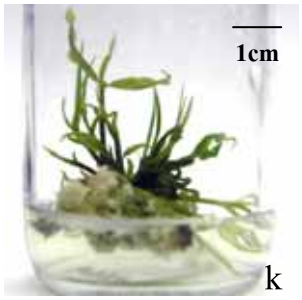
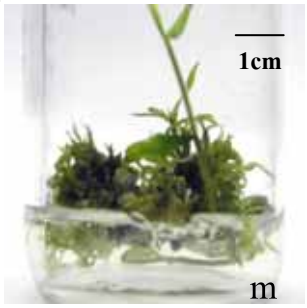
j = MS10 ประกอบด้วย BAP 1.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

k = MS11 ประกอบด้วย BAP 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร

l = MS12 ประกอบด้วย BAP 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร

m = MS13 ประกอบด้วย BAP 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

no growth regulator
a

Kn \ NAA	O mg/L	O.7 mg/L	1.O mg/L
1.0 mg/L	 b	 c	 d
2.0 mg/L	e	f	g
BA \ IBA	0 mg/L	0.7 mg/L	1.0 mg/L
1.25 mg/L	 h	 i	 j
2.5 mg/L	 k	l	 m

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลงวันลิขสิทธิ์

2.6 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำยอดให้เกิดราก

นำกลุ่มยอดที่ได้จากการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณ 3 ยอดต่อกลุ่ม ที่มีความสูงประมาณ 2.5 เซนติเมตร (รูปที่ 6a) เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร 1/2MS ที่ประกอบด้วย NAA ความเข้มข้น 0.25-1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.2 และ 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร (1/2M1-1/2MS9) พบว่ากลุ่มยอดที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร 1/2MS ที่เติม NAA ร่วมกับ IBA ไม่สามารถชักนำให้เกิดรากได้ (ตารางที่ 7) โดยพบสารสีน้ำตาลบริเวณรอบกลุ่มยอด ต่อมากลุ่มยอดเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองปนน้ำตาลและตายในที่สุด ในเวลา 5 สัปดาห์ (รูปที่ 6b)

ผลการศึกษาเพิ่มเติมโดยนำกลุ่มยอด 3 ยอดต่อกลุ่ม เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบ NAA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ IBA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ จากนั้นย้ายมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต 1 สัปดาห์ พบว่า กลุ่มยอดที่เลี้ยงบนสูตรอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS1) เกิดราก 80 เปอร์เซ็นต์ ให้จำนวนรากเฉลี่ย 2.8 รากต่อกลุ่มยอด และความยาวรากเฉลี่ย 4.95 เซนติเมตรต่อกลุ่มยอด รากมีสีขาวปนเขียวและมีขนราก (ตารางที่8, รูปที่ 6c) ส่วนกลุ่มยอดที่นำมาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบ IBA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (MS 2) ไม่เกิดรากแต่เกิดสารสีน้ำตาลรอบกลุ่มยอด ต่อมากลุ่มยอดเปลี่ยนเป็นสีเหลืองปนน้ำตาลและตายในที่สุด

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ลิขสิทธิ์

ตารางที่ 7 ผลของ NAA และ IBA ในอาหารกึ่งแข็งสูตร 1/2 MS ต่อการชักนำกลุ่มยอด 3 ยอดต่อกลุ่ม ของไผ่รวกให้เกิดราก หลังจากการเลี้ยงเป็น เวลา 5 สัปดาห์

สูตรอาหาร 1/2 MS	ความเข้มข้นของ NAA (มก./ล.)	ความเข้มข้นของ IBA (มก./ล.)	% การเกิดราก[1/]	จำนวนรากเฉลี่ย[1/] (ราก)	ความยาวรากเฉลี่ย[1/] (ซม.)
1/2 MS1	0	0	0	0	0
1/2 MS2	1.5	0.2	0	0	0
1/2 MS3	1.5	0.7	0	0	0
1/2 MS4	1.0	0.2	0	0	0
1/2 MS5	1.0	0.7	0	0	0
1/2 MS6	0.5	0.2	0	0	0
1/2 MS7	0.5	0.7	0	0	0
1/2 MS8	0.25	0.2	0	0	0
1/2 MS9	0.25	0.7	0	0	0

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

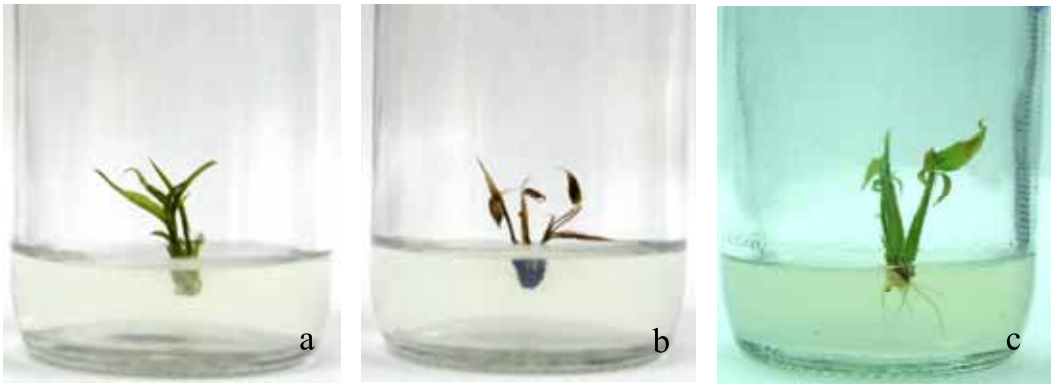
[1/] จากการทดลอง 10 ซ้ำ

ตารางที่ 8 ผลของ NAA และ IBAในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ต่อการชักนำกลุ่มยอด 3 ยอดต่อกลุ่ม ของไผ่รวกให้เกิดรากหลังจากการเลี้ยงเป็นเวลา 3 สัปดาห์ แล้วย้ายลงอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารเร่งการเจริญเติบโตเป็นเวลา 1 สัปดาห์

สูตรอาหาร	ความเข้มข้นของ		%	จำนวนรากเฉลี่ย[1/]	ความยาวรากเฉลี่ย[1/]
MS	NAA (มก./ล.)	IBA (มก./ล.)	การเกิดราก[1/]	(ราก)	(ซม.)
MS1	5	0	80	2.8	4.95
MS2	0	5	0	0	0

[1/] จากการทดลอง 10 ซ้ำ

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์



รูปที่ 6 ผลของ NAA และ IBA ความเข้มข้นต่างๆ ต่อการชักนำกลุ่มยอดให้เกิดราก ที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งสูตร MS และ 1/2 MS เป็นเวลา 5 สัปดาห์

a กลุ่มยอดก่อนการทดลองที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร 1/2MS1-9 และอาหารกึ่งแข็งสูตร MS 2

b กลุ่มยอดหลังการทดลองที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร 1/2MS1-9 และอาหารกึ่งแข็งสูตร MS 2

c กลุ่มยอดหลังการทดลองที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ประกอบ NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ แล้วย้ายลงอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารเร่งการเจริญเติบโต 1 สัปดาห์

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การแพร่กระจายและนิเวศวิทยาของไผ่รวก

จากการศึกษาตัวอย่างในธรรมชาติและตัวอย่างพรรณไม้แห้งไผ่รวกจากพิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา (BKF) และพิพิธภัณฑ์พืชสิรินธร (BK) พบว่า ข้อมูลลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การแพร่กระจายและนิเวศวิทยาของไผ่รวก ให้ผลการศึกษาเหมือนกับผู้เก็บและหมายเลข (ตารางที่ 1) ที่แสดงข้อมูลอ้างอิงตัวอย่างแห้งไผ่รวกในพิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา (BKF) และพิพิธภัณฑ์พืชกรุงเทพฯ (BK) และข้อมูลในหนังสือไผ่ Plant Resources of South-East Asia (PROSEA 7) (Dransfield และ Widjaja 1997) และหนังสือไผ่ในประเทศไทย (รุ่งนภาและคณะ 2544)

2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่รวก

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ศูนย์วิทยทรัพยากร

2.1 การศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของเนื้อเยื่อเริ่มต้นสำหรับการเพาะเลี้ยง

การฟอกฆ่าเชื้อที่ส่วนผิวของข้อขนาด 3-4 เซนติเมตร ของไผ่รวก คือ การใช้สารละลายไฮเตอร์ ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที ได้ชิ้นเนื้อเยื่อเริ่มต้นที่ปลอดเชื้อ 82 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้พบว่าฤดูกาลมีผลต่อการฟอกฆ่าเชื้อและการปลอดเชื้อที่ส่วนข้อที่นำมาฟอกด้วยถึงแม้จะใช้วิธีการฟอกแบบเดียวกัน จากตารางที่ 2 พบว่า การฟอกด้วยสารละลายไฮเตอร์ ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที หรือ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที ในเดือนมิถุนายน-ตุลาคม ซึ่งเป็นช่วงฤดูฝนให้ผลการปลอดเชื้อที่เนื้อเยื่อส่วนข้อ 32.5-46.6 เปอร์เซ็นต์ ทั้งนี้อาจมีผลมาจากขนและกาบหุ้มส่วนตาข้อ ซึ่งในช่วงฤดูฝนมีความชื้นสูงมีผลทำให้มีเชื้อติดตามขนและซอกกาบใบ ทำให้ยากต่อการฟอกให้ปลอดเชื้อ นอกจากนี้ยังมีอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้การฟอกไม่ปลอดเชื้อ คือด้วงงวงเจาะหน่อ เพลี้ยอ่อนดูดน้ำเลี้ยงหน่อและยอดอ่อน ตามข้อที่นำมาใช้เลี้ยงเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (สุรชัย และวิโรจน์ 2536) ซึ่งไม่สามารถทำให้ข้อปลอดเชื้อเมื่อนำมาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวส่วนข้อได้

นอกจากนี้ พบว่าในแต่ละช่วงเวลาที่ทำการฟอกฆ่าเชื้อให้ผลการปลอดเชื้อที่แตกต่างกัน คือ ในช่วงเดือนมีนาคม-พฤษภาคม ให้ผลการปลอดเชื้อ 76.1-82.0 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงเดือนมิถุนายน-ตุลาคม ให้ผลการปลอดเชื้อ 32.5-67.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในเดือนกุมภาพันธ์ ให้ผลการปลอดเชื้อ 63.3 เปอร์เซ็นต์

การฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของเนื้อเยื่อเริ่มต้นโดยใช้สารไฮเตอร์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที เป็นวิธีที่ประสบผลสำเร็จในไผ่รวก เช่นเดียวกับวิธีการฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรด์ในไผ่ชนิดอื่นๆ ที่มีระดับความเข้มข้นต่างกันในไผ่ *Bambusa edulis* (Lin และ Chang 1998) ไผ่ซาง (*Dendrocalamus strictus*) (Singh และคณะ 2000) Taiwan giant bamboo (*Sinocalamus latiflora*) (Yeh และ Chang 1987) ไผ่หก (*D. hamiltonii*) (Godbole และคณะ 2002) และวิธีการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย mercuric chloride ($HgCl_2$) ที่ความเข้มข้นต่างกันในไผ่ *Thamnocalamus spathiflorus* (Niladri และคณะ 2000) ไผ่ *Phyllostachys viridis* (Hassan และ Debergh 1986) และไผ่บงดำ (*B. tulda*) (Saxena 1990)

2.2 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อ

ความเข้มข้นของสารเร่งการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อไผ่รวก คือ BA ที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ทำการเลี้ยง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เกิดยอด 13.5 ยอดต่อข้อ ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Prutpongse และ Gavinlertvatana (1992) โดยพบว่า BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดกลุ่มยอดจากตาข้อได้ดีที่สุดจากข้อไผ่ 54 ชนิดจาก 15 สกุล การเลี้ยงข้อไผ่รวกในอาหารสูตร MS ที่ไม่มีสารเร่งการเจริญเติบโตและที่มี BA นั้นสามารถชักนำให้ข้อไผ่รวกเกิดยอดได้ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่การเกิดยอดจากข้อไผ่รวกจะเพิ่มมากขึ้นตามความเข้มข้น BA และจะน้อยลงเมื่อความเข้มข้นของ BA และให้จำนวนยอดสูงสุดที่ BA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และจำนวนยอดจะน้อยลงเมื่อ BA เพิ่มสูงขึ้น ตั้งแต่ BA 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นต้นไป Godbole และคณะ (2002) พบว่า BA ชักนำให้เกิดยอดจากข้อไผ่หก (*Dendrocalamus hamiltonii.*) ส่วน Arya และคณะ (1999) ทำการศึกษาการเพิ่มจำนวนยอดจากเมล็ดในไผ่ตง (*Dendrocalamus asper*) พบว่า จำนวนยอดและความสูงของยอดจะลดลง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ BA ให้สูงขึ้น ส่วนในอาหารที่ไม่ได้เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตมีการแตกยอดจากข้อของไผ่รวกต่ำกว่าข้อที่เลี้ยงบนสูตรอาหารที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโต ทั้งนี้เนื่องมาจากระดับฮอร์โมนภายในพืชมีปริมาณที่ต่ำจึงทำให้การแตกยอดได้ไม่ดี

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ลิขสิทธิ์

2.3 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากกลุ่มยอด

การนำกลุ่มยอดไผ่รวก 3 ยอดต่อกลุ่ม ขนาดความสูง 2.5 เซนติเมตร เลี้ยงในสภาพของอาหารที่แตกต่างกัน 3 สภาพ คือ อาหารเหลวสภาพเขย่า อาหารเหลวสภาพนิ่ง และอาหารกึ่งแข็ง พบว่าการเลี้ยงในอาหารเหลวสภาพเขย่าและอาหารเหลวสภาพนิ่งให้ผลในการเกิดยอดทวีคูณมากกว่าการเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งอย่างมีนัยสำคัญ การเกิดยอดทวีคูณในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารเหลวสภาพนิ่งให้จำนวนยอดมากกว่าในอาหารเหลวสภาพเขย่าในช่วงเวลา 2-4 สัปดาห์ แต่เมื่อทำการเลี้ยงถึงสัปดาห์ที่ 6 พบว่า อาหารเหลวสภาพเขย่าและอาหารเหลวสภาพนิ่งให้ผลการเกิดยอดทวีคูณไม่แตกต่างกัน และเมื่อเลี้ยงต่อถึงสัปดาห์ที่ 8 พบว่าอาหารเหลวสภาพเขย่าชักนำให้เกิดยอดทวีคูณมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญโดยได้จำนวนยอด 36.1 ยอด ซึ่งคิดเป็นอัตราการขยาย 12 เท่า ทั้งนี้เนื่องมาจากอาหารกึ่งแข็งมีวุ้นเป็นส่วนผสมในอาหารทำให้เกิดความหนาแน่น ส่วนในอาหารเหลวสภาพนิ่งให้ผลดีในระยะ 2-4 สัปดาห์แรก เพราะยังมีจำนวนยอดไม่มาก แต่เมื่อจำนวนยอดเพิ่มมากขึ้น จึงต้องมีการระบายและการหมุนเวียนของอากาศภายในอาหารมากยิ่งขึ้น ซึ่งผลที่ได้จากการทดลองสอดคล้องกับการทดลองการเกิดยอดทวีคูณของไผ่ซาง (*Dendrocalamus strictus*) ในอาหารเหลวที่เติม BA ร่วมกับ Kn และน้ำมะพร้าว (Ravikumar และคณะ 1998) ซึ่งการเลี้ยงยอดทวีคูณของไผ่ในอาหารเหลวได้มีรายงานไว้ในไผ่บงดำ (*Bambusa tulda*) และไผ่ Strong timber (*B. balcooa*) (Das และ Pal 2005; Saxena 1999) สำหรับความเข้มข้นของสารเร่งการเจริญเติบโตส่วนใหญ่ใช้ BA ร่วมกับ Kn โดยความเข้มข้นของสารเร่งการเจริญเติบโตแตกต่างกันไปตามชนิดของไผ่ (Das และ Pal 2005; Gielis และคณะ 2001; Arya และคณะ 1999; Prutponges และ Gavinlertvatana 1992; Saxena 1990)

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ลิขสิทธิ์

2.4 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากกลุ่มยอด

ความเข้มข้นของสารเร่งการเจริญเติบโตที่เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากกลุ่มยอดไผ่รวก 3 ยอดต่อกลุ่ม ในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS คือ 2,4-D ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดคัลลัส 70 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลขนาดคัลลัสมีขนาด 0.62 เซนติเมตร และในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดคัลลัส 90 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลขนาดคัลลัส 0.54 เซนติเมตร ซึ่งอาหารทั้งสองสูตรให้ผลขนาดคัลลัสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ คัลลัสมีขนาดใหญ่กว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับสารเร่งการเจริญเติบโตในอาหารสูตรอื่นๆ คัลลัสมีลักษณะกลมเล็กเกาะกลุ่มกันหนาแน่น สีเขียวอ่อน ในเวลา 12 สัปดาห์ ซึ่งการทดลองสอดคล้องกับการทดลองที่ใช้สารเร่งการเจริญเติบโต 2,4-D และ BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำยอดที่ได้จากข้อของไผ่ซางให้เกิดคัลลัส โดยพบลักษณะคัลลัส 2 ชนิด คือ คัลลัสที่เกาะกลุ่มหลวมๆ เจริญเติบโตเร็ว และ คัลลัสที่มีลักษณะกลมเล็กเกาะกลุ่มหนาแน่น เจริญเติบโตช้า (Godbole และคณะ 2002) และการชักนำเมล็ดไผ่ Taiwan giant ให้เกิดคัลลัสในอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 6 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 3 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าคัลลัสมีลักษณะเป็นตุ่มเล็ก สีน้ำตาลเข้ม หลังจากเลี้ยงเป็นเวลา 90 วัน (Yeh และ Chang 1987) และสุธิดา (2534) พบว่า 2,4-D ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมต่อการชักนำเมล็ดและต้นอ่อนของไผ่ซาง ไผ่ป่า และไผ่รวกให้เกิดคัลลัส แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ 2,4-D สูงขึ้นถึง 6 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลให้เมล็ดเกิดคัลลัสน้อยลง

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ลิขสิทธิ์

2.5 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการพัฒนาคัลลัสไปเป็นยอด

นำกลุ่มคัลลัสขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 เซนติเมตร มาเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติมสารเร่งการเจริญเติญโต BA ร่วมกับ Kn และ NAA ร่วมกับ IBA ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ให้ผลการเกิดยอดแตกต่างกัน กลุ่มคัลลัสที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.25-2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA 0-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดยอดได้มากกว่ากลุ่มคัลลัสที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม Kn ความเข้มข้น 1.0-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 0-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างมีนัยสำคัญ โดย BA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดมากที่สุด 27.0 ยอดต่อกลุ่มคัลลัส ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนยอดที่เกิดจาก BA ความเข้มข้น 1.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยจากการทดลองของ สุธิดา (2534) ทำการชักนำกาบใบอ่อนของไผ่ทองและไผ่สีสุกให้เกิดคัลลัสบนอาหารที่ประกอบด้วย 2,4-D จากนั้นนำคัลลัสที่ได้มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิดยอด และจากการทดลองของ Godbole และคณะ (2002) โดยนำยอดอ่อยจากส่วนข้อของไผ่หกมาชักนำให้เกิดคัลลัสบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำคัลลัสมาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มี BA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำให้เกิด somatic embryo แล้วจึงย้ายลงบนอาหารที่ปราศจากสารเร่งการเจริญเติบโตเพื่อชักนำให้เกิดต้น ส่วนการทดลองของ Rout และ Das (1994) ได้นำคัลลัสที่ได้จากเนื้อเยื่อส่วนข้อและไซโกตจากเมล็ดของไผ่เหลือง ไผ่เป๊าะและไผ่ซาง ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม 2,4-D 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kn 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร มาเลี้ยงบนสูตรอาหาร 1/2 MS ที่เติม Kn 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ adeninesulphate 10 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าคัลลัสพัฒนาเป็น somatic embryo และเกิดต้น 95-98 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Yeh และ Chang (1987) และ Wood และคณะ (1992) พบว่า 2,4-D มีความจำเป็นสำหรับการชักนำให้เกิด somatic embryo ในไผ่ Taiwan giant และไผ่ Mexican Weeping

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ลิขสิทธิ์

2.6 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมต่อการชักนำยอดให้เกิดราก

การชักนำกลุ่มยอดไผ่รวกให้เกิดราก จากกลุ่มยอด 3 ยอดต่อกลุ่ม ที่เลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสูตร 1/2 MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.25-1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.2-0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่ากลุ่มยอดไผ่รวกไม่เกิดราก ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการเลี้ยงกลุ่มยอดในอาหารที่มีสารเร่งการเจริญเติบโตนานเกินไปทำให้เกิดสารสีน้ำตาลรอบๆกลุ่มยอด และใบของกลุ่มยอดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลในเวลาต่อมา

จากการศึกษาเพิ่มเติมโดยนำกลุ่มไผ่รวกมาเลี้ยงในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม NAA 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ และย้ายลงบนอาหารที่ไม่เติมสารเร่งการเจริญเติบโต พบว่ากลุ่มยอดไผ่รวกเกิดราก ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากปริมาณความเข้มข้นที่พอเหมาะของออกซินกระตุ้นการเกิดราก เมื่อย้ายลงอาหารสูตรที่ไม่เติมสารเร่งการเจริญเติบโตจึงเกิดการยืดตัวของราก เนื่องจากระยะการเริ่มเกิดราก (root initiation) ต้องการปริมาณออกซินความเข้มข้นสูงกว่าระยะยืดยาวของราก (root elongation) สำหรับการทดลองของ Arya และคณะ (1999) นำกลุ่มยอดไผ่ตง 3 ยอดต่อกลุ่ม เลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ NAA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว พบว่า กลุ่มยอดเกิดราก 10-15 ราก ในเวลา 4 สัปดาห์ และกลุ่มยอดของไผ่ซางและไผ่รวก เกิดรากมากที่สุดบนสูตรอาหารที่เติม NAA หรือ IBA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร (สุธิดา 2534) และจากการทดลองของ Prutpongse และ Gavinlertvatana (1992) พบว่า NAA ความเข้มข้นของ 2.7-5.4 ไมโครโมลาร์ สามารถชักนำให้ไผ่เกิดรากได้โดยความเข้มข้นของ NAA ขึ้นอยู่กับชนิดของไผ่

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

1. การศึกษาลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การแพร่กระจายและนิเวศวิทยาของไผ่รวก

ไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis* Gamble) จัดอยู่ในวงศ์ GRAMINEAE เป็นพืชล้มลุกอายุหลายปี ลำใต้ดินเป็นแบบเหง้า ลำต้นเหนือดินเป็นลำแตกจากตาที่เหง้า การแตกกอแน่นทึบ หน่อมีขนาดเล็ก สีเขียวแกมม่วงอ่อน ลำไผ่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของลำ 2-5 เซนติเมตร มีความสูง 8-12 เมตร ปลายลำมีกิ่งแขนงขนาดเล็ก ปล้องยาว 15-30 เซนติเมตร ข้อค่อนข้างเรียบ กาบหุ้มลำบางแนบชิดติดกับลำต้น มีสีน้ำตาลแก่ ไม่หลุดร่วงเมื่อแก่ ใบเรียวเล็ก ด้านหลังใบมีขน ช่อดอกเกิดที่ซอกใบหรือส่วนปลายกิ่ง เป็นกระจุก ดอกสมบูรณ์เพศ แพร่กระจายตามภูเขาหรือพื้นที่สูง มีความลาดชัน น้ำไม่ขัง ดินมีธาตุอาหารต่ำ ในประเทศไทย พบขึ้นตามป่ากึ่งดิบชื้น ป่าผสมผลัดใบและป่าสัก ทางภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคกลางบางส่วนพบในป่าดิบเขา พบที่ความสูง 100-400 เมตร จากระดับน้ำทะเล ที่ปริมาณน้ำฝน 800-1000 มิลลิเมตร

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ลิขสิทธิ์

2. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่รวก

2.1. การศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของเนื้อเยื่อเริ่มต้นสำหรับการเพาะเลี้ยง

การนำข้อจากกิ่งแขนงไผ่รวกมาใช้ในการเพาะเลี้ยงโดยผ่านวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่ส่วนผิวด้วยสารละลายไฮเตอร์ ที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที ให้ผลข้อปลอดเชื้อมากที่สุด 82 เปอร์เซ็นต์ โดยต้องทำการฟอกนอกฤดูฝนในช่วงเดือนมีนาคม-พฤษภาคม

2.2 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดจากข้อ

ข้อไผ่รวกที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตและที่เติม BA ทุกความเข้มข้น มีการแตกยอด 100 เปอร์เซ็นต์ อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดการแตกยอดเฉลี่ยจากตาข้างมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ 13.50 ยอดต่อข้อ และที่ BA ความเข้มข้น 5.0, 7.5 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ผลการแตกยอดไม่แตกต่างอย่างกันมีนัยสำคัญที่ $P = 0.05$ คือ 8.9, 9.1 และ 10.0 ยอดต่อข้อ ตามลำดับ ในเวลา 4 สัปดาห์

2.3 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดยอดทวีคูณจากกลุ่มยอด

กลุ่มยอดไผ่รวก 3 ยอดต่อกลุ่ม มีการเพิ่มจำนวนยอดทวีคูณได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญในอาหารเหลวสภาพเขย่ามากกว่าอาหารเหลวสภาพนิ่งและอาหารกึ่งแข็ง ในอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kn ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้ง 3 สภาวะ คือ อาหารกึ่งแข็ง อาหารเหลวสภาพนิ่ง และอาหารเหลวสภาพเขย่า ให้จำนวนยอดทวีคูณ 5.1, 23.3 และ 36.1 ยอด ในเวลา 8 สัปดาห์ โดยกลุ่มยอดมีอัตราการเพิ่มจำนวนยอด 12 เท่า บนอาหารเหลวสภาพเขย่า เมื่อมีการเปลี่ยนอาหารสูตรเดิมทุก 2 สัปดาห์

2.4 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำให้เกิดคัลลัสจากกลุ่มยอด

กลุ่มยอดไผ่รวก 3 ยอดต่อกลุ่ม เกิดคัลลัสได้ดีที่สุดในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kn ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม และ IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้คัลลัสที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 0.54 เซนติเมตร ส่วนในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kn ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้คัลลัสที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ย 0.62 เซนติเมตร ในเวลา 12 สัปดาห์ เมื่อมีการเปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์ คัลลัสของไผ่ที่เกิดจากอาหารทั้งสองสูตร มีลักษณะเป็นตุ่มเล็กกลมเกาะกลุ่มหนาแน่นสีเขียวอ่อน (nodular callus)

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

2.5 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการพัฒนาคัลลัสไปเป็นยอด

กลุ่มคัลลัสแบบ nodula callus จากการเพาะเลี้ยงยอดในอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ประกอบด้วย 2,4-D ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร Kn ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2 เซนติเมตร สามารถเจริญและพัฒนาไปเป็นยอดบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0-2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ Kn ความเข้มข้น 0-2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ IBA ร่วม NAA ความเข้มข้น 0-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยอาหารที่ชักนำให้เกิดยอดได้มากที่สุดและมีลักษณะยอดที่ใบยังไม่แผ่กาง คือ อาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดยอด 27.0 ต้นต่อกลุ่มคัลลัส ในเวลา 12 สัปดาห์ เมื่อมีการเปลี่ยนอาหารทุก 4 สัปดาห์

2.6 การศึกษาอาหารสังเคราะห์ที่มีผลต่อการชักนำยอดให้เกิดราก

การชักนำยอดให้เกิดรากโดยนำกลุ่มยอดไผ่รวก 3 ยอดต่อกลุ่ม เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร 1/2MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 0.25-1.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 0.2 และ 0.7

มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 5 สัปดาห์ ไม่สามารถชักนำให้กลุ่มยอดเกิดรากได้ ทำการศึกษาเพิ่มเติม โดยเลี้ยงกลุ่มยอดบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม NAA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ IBA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ แล้วย้ายเลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่ไม่เติมสารเร่งการเจริญเติบโต เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่า กลุ่มยอดที่เลี้ยงบนอาหารกึ่งแข็งสูตร MS ที่เติม NAA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้กลุ่มยอดเกิดราก 80 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนราก 2.8 รากต่อกลุ่มยอด และมีความยาวรากเฉลี่ย 4.95 เซนติเมตร ต่อกลุ่มยอด รากมีสีขาวปนเขียวและมีขนราก

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ข้อเสนอแนะ

1. การชักนำให้ข้อเกิดยอด ผู้วิจัยเสนอว่านอกจากผลของ BA ที่ส่งเสริมให้ข้อไผ่รวกเกิดยอดแล้วควรศึกษาผลของสารเร่งการเจริญเติบโตชนิดอื่นที่เข้ามามีผลร่วมเพื่อส่งเสริมการเกิดยอดจากส่วนข้อ เช่น Kn, NAA และ IBA เพื่อให้เกิดจำนวนยอดมากขึ้น

2. การชักนำให้เกิดยอดทวีคูณ ผู้วิจัยเสนอว่าควรทดลองเปรียบเทียบการแบ่งกลุ่มยอด ตั้งแต่ 2-5 ยอดต่อกลุ่มยอด เพื่อศึกษาผลของกลุ่มยอดที่มีจำนวนยอดที่แตกต่างกันต่อการเกิดยอดทวีคูณ

3. การชักนำให้เกิดคัลลัสจากยอดควรเป็นยอดที่แตกจากข้อประมาณ 2-3 สัปดาห์ ยอดจะมีการพัฒนาเป็นคัลลัสได้เร็ว ส่วนยอดในสัปดาห์ที่ 4 บางยอดมีการพัฒนาด้านความสูงเพิ่มขึ้น ใบคลี่ออก ไม่พบเกิดคัลลัสหรืออาจจะเกิดน้อยแต่จะเกิดในยอดที่อ่อนกว่าในกลุ่มยอดเดียวกัน และจากการทดลองพบว่าคัลลัสสามารถเจริญและเพิ่มขนาดได้อย่างรวดเร็ว ถ้าทำการเปลี่ยนอาหารทุกๆ 3 สัปดาห์ นอกจากนี้ควรมีการพัฒนาสูตรอาหารที่ชักนำคัลลัสให้เกิด somatic embryo ให้มากที่สุดเพื่อที่จะพัฒนาต่อไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้

4. การชักนำให้เกิดรากยังไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควรเพราะว่าระดับของสารเร่งการเจริญเติบโตยังไม่เหมาะสม ควรศึกษาสารเร่งการเจริญเติบโตทั้งกลุ่มไซโตไคนินและออกซินชนิดต่างๆร่วมกันในการชักนำให้เกิดรากร่วมกับการเลี้ยงในสภาพมืด

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

บรรณานุกรม

ภาษาไทย

กรมส่งเสริมการเกษตร. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับงานขยายพันธุ์พืช. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, 2546.

เต็ม สมิตินันทน์ และ ชุมศรี ชัยอนันต์. “การจำแนกพรรณไม้ไผ่ในประเทศไทย.” ใน : อนุสรณ์งานพระราชทานเพลิงศพศาสตราจารย์ ดร. เต็ม สมิตินันทน์ กรุงเทพฯ : บริษัทรำไทยเพรส จำกัด, 2538. น. 109-129.

นิ่มนวล วาศนา. “การเลี้ยงเนื้อเยื่ออ่อนของไผ่สีสุก.” ปัญหาพิเศษปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2528.

ประสาน บำรุงราษฎร์ และ สกลศักดิ์ รัมยะรังสี. การส่งเสริมการปลูกไผ่ของกรมป่าไม้. กรุงเทพฯ : คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2528.

ยุพิน เคนตรี อรดี สหวัชรินทร์ กฤษณา กฤษณพุกต์ และ สุรียา ตันติวิวัฒน์. “ผลของ Benzyladenine และ Nepthalene Acetic Acid ต่อการเพิ่มปริมาณยอดและการชักนำให้เกิดรากของไผ่ตรงในสภาพปลอดเชื้อ.” วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 7 ,2 (2542) : 34-40.

รุ่งนภา พัฒนาวิบูลย์ บุญฤทธิ์ ภูริยากร และ วลัยพร สถิตวิบูรณ์. ไผ่ในประเทศไทย. กรุงเทพฯ : สำนักวิชาการป่าไม้, 2544.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช. “รวมหลักเภสัชกรรมไทย” สารานุกรมสมุนไพร. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์, 2540.

วนิดา สุบรรณเสณี. “ของป่าในประเทศไทย.” เอกสารวิชาการ เลขที่ ร. 451. สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้, 2539. (อัดสำเนา)

ศูนย์ปฏิบัติการพืชเศรษฐกิจ. ไผ่รวก. [online], Accessed 9 August 2004. Available from http://www.dnp.go.th/EPAC/bamboo_rattan/bamboo19.htm

ส่วนศูนย์ข้อมูลกลาง สำนักนิเทศกรมป่าไม้. สถิติการป่าไม้ของประเทศไทย ปี 2541. กรุงเทพฯ : กรมป่าไม้ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2541.

สุทัศน์ เดชวิสิทธิ์. ไผ่สำหรับคนรักไผ่. กรุงเทพฯ : อโทรคอมมิวนิคก้า, 2537.

สุธิดา ฉันทานุรักษ์. “การเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่ : ผลของ 2, 4-D, NAA, และ BAP ต่อการเกิดแคลลัสและยอด.” วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2534.

สุภาวดี เลาทะกุล. “ไผ่ตง.” ฐานเกษตรกรรม. 2, 15 (2527) : 35-61.

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

สุรชัย ชลดำรงค์กุล และวิโรจน์ อธิรัตนปัญญา. “ผลผลิตและความเสียหายที่เกิดจากแมลงและโรคของหน่อไผ่รวก (*Thysostachys siamensis* Gamble.) ภายหลังการตัดสางลำ.” วิทยาสารเกษตรศาสตร์. 27, 1 (2536) : 20-24.

ภาษาอังกฤษ

Alexander, M.P. and Rao, T.C.R. “In vitro culture of bamboo embryos.” Current Science. 37 (1968) : 415.

Anantachote, A. “Flowering Characteristics of some Bamboos in Thailand.” In : Bamboos Current Research : Proceeding of the International Bamboo Workshop. Thailand, 14-18 November; 1988., pp. 136-145.

Arya, S., Sharma, S., Kaur, R. and Arya, D. I. “Micropropagation of *Dendrocalamus asper* by shoot proliferation using seeds.” Plant Cell Reprots. 18 (1999) : 879-882.

Austin, R., Levy, D. and Ueda, R. Bamboo. New York : Weatherhill, 1983. p 215

Banik, R.L. “Seed germination of some bamboo species.” In : Proceeding of a workshop on bamboo research in Asia. IDRC, Canada, 1980. pp. 139-150.

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์

Boontawee, A. and Ramyarangsi, S. “RFD extension work on bamboo cultivation.” In: Thammincha, S. and Anantachote, A. (eds.). Second National Bamboo Seminar ; Kasetsart University, Bangkok, 1989. pp. 213-219.

Chu, C.C., Went, C.C., Sun, C.S., Hsu, C., Yin, K.C., Chu, C.Y. and Bi, E.Y. “Establishment of an efficient medium for anther culture of rice throuth comparative experiments on the Nitrogen Sources.” Science Sinica. 18 (1975) : 659-668.

Das, M. and Pal, A. “In vitro regeneration of *Bambusa balcooa* Roxb.: Factors affecting changes of morphogenetic competence in the axillary buds.” Plant Cell Tissue and Organ Culture. 81 (2005) : 109-112.

Dransfield, S. “Bamboo taxonomy in the Indo-Malasian Region.” In : Lessard, G., and Chouinard, A.(eds.). Bamboo Research in Asia. Proceedings of a workshop. Singapore, 28-30 May; 1980., pp.1-130.

Dransfield, S. and Widjaja, E.A. “Bamboos.” Plant Resources of South-East Asia (PROSEA 7). Bogor : The Prosea Handbook, 1997. pp. 145-147.

FAO. “Bamboo.” Forest News for Asia and the Pacific. 2(4). Bangkok : FAO Reginal office for Asia and The Far East, 1978.

Gamble, J. S. “*Thyrsostachys siamensis*.” Annual Royal Botanic Gardens. Calcutta. 7 (1897) : 59.

Gamborg, O.L., Miller, R.A. and Ojima, K. “Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells.” Experimental Cell Research. 50 (1968) : 151-158.

Gielis, J., Peeters, H., Gillis, K., Oprins, J. and Debergh, PC. “Tissue culture strategies for genetic improvement of bamboo.” Acta Horticulturae. 552 (2001) : 195-204.

Godbole, S., Sood, A., Thakur, R., Sharma, M. and Ahuja, P.S. “Somatic embryogenesis and its conversion in to plantlets in a multipurpose bamboo, *Dendrocalamus hamiltonii* Nees et Arm. Ex Munro.” Current Science. 83 (2002) : 885-889.

Hasan, S.M. “Lessons from past studies on the propagation of bamboos.” In : Lessard, G. and Chouinard, A. (eds.). bamboo research in Asia. IDRC, Canada, 1980. pp. 131-138.

Huang, L. and Murashige, T. “Tissue culture investigation of bamboo. I. Callus cultures of *bambusa*, *Phtllostachys* and *Sasa*.” Botanical Bulletin of Academic Sinica. 24 (1983) : 31-52.

มหาวิทยาลัยศิลปากร ศูนย์วิทยทรัพยากร

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

Lin, C.S. and Chang, W.C.“Micropropagation of *Bambusa edulis* through nodal explants of field-grown culms and flowering of regenerated plantlets.” Plant Cell Reports. 17 (1998) : 617-620.

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

Lin, C.S., Lin, C.C. and Chang , W.C. “Effect of thidiazuron on vegetative tissue-derived somatic embryogenesis and flowering of bamboo *Bambusa edulis*.” Plant Cell Tissue and Organ Culture. 76 (2004) : 75-82.

McCown, B. and Lloyd, G. “Commercially feasible micropropagation of mountain laurel *Kalmia latifolia* by use of shoot tip culture.” International Plant Propagators Society. 30 (1981) : 421-427.

Metha, U., Rao, I.V.R. and Ram, H.Y.M. “Somatic embryogenesis in bamboo.” In : Plant Tissue Culture : Proceeding International Congress of Tissue & Cell Culture. Tokyo, Japan, 1982. pp. 109-110.

Murashige, T. and Skoog, F. “A revised medium for rapid growth and bio-assay with tobacco tissue culture.” Physiologia Plantarum. 15 (1962) : 473-497.

Niladri, B., Suman, C., Lok Man S, P. and Shyamal K, N. “Micropropagation of Dev-ringal (*Thamnocalamus spathiflorus* (Trin.) Munro)–a temperate bamboo, and comparison between in vitro propagated plants and seedling.” Plant Science. 156 (2000) : 125-135.

Nitsch, J.P. and Nitsch, C. “Haploid plants from pollen grains.” Science. 163 (1969) : 85-87.

Prutpongse, P and Gavinlertratana, P. “In vitro Micropropagation of 54 species from 15 genera of bamboo.” HortScience. 27, 5 (1992) : 453-454.

Ramyarangesi, S. “Bamboo Research in Thailand.” In : Rao, A.N.; Dhanarajan, G. and Sastry, C.B. (eds.). Recent Research on Bamboo. CAF, China and IDRC, Canada, 1985. pp 7-69.

Ramyarangesi, S. “Techniques for Seed Storage of *Thyrsostachys siamensis*.” In : Bamboos Current Research : Proceedings of theInternational Bamboo Workshop. Thailand, 14-18 November; 1988., pp. 133-135.

Ravikumar, R., Ananthakrishnan, G., Kathiravan, K. and Ganapathi, A. “In vitro shoot propagation of *Dendrocalamus strictus* Nees.” Plant Cell Tissue and Oragan Culture. 52 (1998) :189-192.

Rout, G.R and Das, P. “Somatic embryogenesis and in vitro flowering of 3 species of bamboo.” Plant Cell Reports. 13 (1994) : 683-686.

Saxena, S. “In vitro propagation of the bamboo (*Bambusa tulda* Roxb.) though shoot proliferation.” Plant Cell Reports. 9 (1990) : 431-434.

Saxena, S and Dhawan, V. “Regeneration and large-scale propagation of bamboo (*Dendrocalamus strictus* Nees.) through somatic embryogenesis.” Plant Cell Reports. 18, 5 (1999) : 438-443.

Singh, M., Jaiswal, U and Jaiswal, V.S. “Thidiazuron-induced in vitro flowering in *Dendrocalamus strictus* Nees.” Current Science. 79 (2000) : 1529-1530.

Smitinand, T. and Ramyarangesi, S. “Country report on Thailand.” In : Lessard, G. and Chouinard. A. (eds.). Bamboo Research in Asia. IDRC, Canada, 1980. pp 85-90.

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ลิขสิทธิ์

Thammincha, S., Anantachote, A., Saengwanich, U., Puangchit, L., Arunpraparat, w., Suksard, S., Tanhavate, C., and Saengnil, S. “Bamboo (Thailand) Phase III.” Final Report submitted to IDRC, 1996.

Tsay, H.S., Yeh, C. C. and Hsu, J. Y. “Embryogenesis and plant regeneration from anther culture of bamboo (*Sinocalamus latiflora* (Munro) McClure).” Plant Cell Reports. 9 (1990) : 349-351.

White, PR. The Cultivation of Animal and Plant Cell. New York : The Ronald Press, 1963. p. 228

Woods, S.H., Phillips, G.C., Woos, J.E. and Collins, G.B. “Somatic embryogenesis and plant regeneration from zygotic embryo explants in mexican weeping bamboo, *Otatea acuminata* aztecorum.” Plant Cell Reports. 11 (1992) : 257-261.

Yeh, M.L and Chang, W.C. “Plant regeneration via somatic embryogenesis in mature embryo-derived callus culture of *Sinocalamus latiflora* (Munro) McClure.” Plant Cell Reports. 51 (1987) : 93-96.

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

สูตรอาหารของ Murashige and Skoog (1962)

สารเคมี	มิลลิกรัม/ลิตร
ธาตุอาหารหลัก	
$MgSO_4.7H_2O$	370
$CaCl_2.2H_2O$	440
KNO_3	1,900
NH_4NO_3	1,650
KH_2PO_4	170
ธาตุอาหารรอง	
$MnSO_4.4H_2O$	22.3
KI	0.83
$CoCl_2.6H_2O$	0.025
$ZnSO_4.7H_2O$	8.6
$CuSO_4.5H_2O$	0.025
H_3BO_3	6.2
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25
$FeSO_4.7H_2O$	27.8
สารอินทรีย์	
Na_2EDTA	37.3
Glycine	2.0
Nicotinic acid	0.5
Pyridoxine HCl	0.5
Thiamine HCl	0.1
Myo-inositol	100
Sucrose	30,000 (30 g/l)
phytagel	2,500 (2.5 g/l)

มหาวิทยาลัยศิลปากร สงวนลิขสิทธิ์

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นายอภิศักดิ์ ดวงมณี
ที่อยู่	41 หมู่ 9 ตำบลแกใหญ่ อำเภอเมือง จังหวัดสุรินทร์ 32000

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2542	สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาปีที่ 6 จากโรงเรียนสุรนารีวิทยา 2
พ.ศ. 2545	สำเร็จการศึกษาปริญญาครุศาสตร์บัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ วิชาเอก ชีววิทยา วิชาโท ภาษาอังกฤษ จากสถาบันราชภัฏนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา
พ.ศ. 2546	ศึกษาต่อระดับปริญญามหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร

ผลงานที่ตีพิมพ์เผยแพร่

Duangmanee A, Thepsithar C, Thongpukdee A (2006) Tissue culture of *Thyrsostachys siamensis* by multiple shoot induction. Proceeding: 32nd Congress on Science and Technology of Thailand – Science and Technology for Sufficiency Economy to Celebrate the 60th Anniversary of the Majesty the King's Accession to the Throne. Sirikit Convention Hall, Bangkok, Thailand, 10-12 October, B1_B0209

มหาวิทยาลัยศิลปากร ลิขสิทธิ์